**Universidade de São Paulo
Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”**

**Interferentes analíticos provenientes da colheita, carregamento e transporte
nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar**

Gislene Roberta Manarim

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

**Piracicaba
2017**

Gislene Roberta Manarim
Engenheira Agrônoma

Interferentes analíticos provenientes da colheita, carregamento e transporte nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar

versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011

Orientador:
Prof. Dr. **CLAUDIO LIMA DE AGUIAR**

Dissertação apresentada para obtenção do título de
Mestra em Ciências. Área de concentração:
Microbiologia Agrícola

Piracicaba
2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
DIVISÃO DE BIBLIOTECA – DIBD/ESALQ/USP

Manarim, Gislene Roberta

Interferentes analíticos provenientes da colheita, carregamento e transporte nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar / Gislene Roberta Manarim. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 6018 de 2011. - - Piracicaba, 2017.

88 p.

Dissertação (Mestrado) - - USP / Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

1. Cana-de-açúcar 2. Técnicas analíticas 3. Amido 4. Dextrana 5. Cromatografia. .
I. Título

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho a meu marido Luis Fernando Recchia Bombo, meus pais Silvia Aparecida Setem e Paulo Cherles Manarim e a minha irmã Luana Kellen Manarim

AGRADECIMENTOS

A Deus por guiar meus passos nas melhores oportunidades e caminhos me mantendo sempre perseverante e dedicada.

A minha querida mãe Silvia Aparecida Setem por todo o amor, carinho e dedicação na minha formação, por acreditar em meus sonhos, me apoiar nas decisões tomadas e me passar conselhos valiosos que formaram meu caráter.

Ao meu pai Paulo Charles Manarim pela aproximação nesses anos de mestrado, pelo incentivo e felicidade.

Ao meu amado marido Luis Fernando Recchia Bombo por todo amor demonstrado, pela presença em todas as etapas, pelo incentivo em minha carreira acadêmica, pela extrema paciência e pelos conselhos que me permitem observar que a vida deve ser pensada sempre de forma positiva.

A minha irmã Luana Kellen Manarim e cunhado Mauro Ribeiro da Silva Júnior por todo o momento de alegria, distração, companheirismo e senso de responsabilidade.

Ao meu orientador Prof. Dr. Claudio Lima de Aguiar pelas oportunidades ao longo desses anos, pela liberdade de escolhas, por demonstrar os melhores caminhos, pela motivação, pela paciência, pela confiança em meu trabalho e pela amizade construída.

Aos amigos do dia a dia Juliana Aparecida de Souza Sartori, Roberta Bergamin, Felipe Iwagaki Braga Ogando, Nathália Torres Correa Magri, Juliana Lorenz Mandro, Jéssica Rodrigues Jambassi, Marina Pires, Graziela Maniero Beloti, Mariana Bellanger, Carlos Bernardo da Cruz, Nayara Lifante e Lucas da Rosa Borges por se mostrarem sempre disponíveis a ajudar, pelos momentos de alegria que tornaram a rotina mais prazerosa, pelos conselhos no desenvolver do trabalho, mas acima de tudo pela amizade e pela parceria que construímos durante estes anos.

Ao colega Lucas Sartori pela disponibilidade em ajudar nas colheitas da cana-de-açúcar mensalmente. Sua ajuda foi de fundamental importância na agilidade de corte e rapidez de análise.

Aos técnicos do laboratório, Pedro Dorival Lucentini, Sylvino Luiz Torrezan e Rosemary Leonessa da Silva por todos os meses de moagem e pela disponibilidade em ajudar sempre, facilitando o meu trabalho.

A uma indústria sucro-energética da região de Piracicaba pela pronta atenção a importância do projeto, disponibilizando informações das variedades utilizadas e doação de matéria-prima.

Aos apoios financeiros durante o mestrado concedidos pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Muito obrigada!

BIOGRAFIA

Atividades que realizei durante o andamento do mestrado, que teve início em Março de 2015:

- **MANARIM, G.R.**; AGUIAR, C.L. Removal of Pigments from Sugarcane Cells by Adsorbent Chromatographic Column. **Annals of Chromatography & Separation Techniques**, v. 2, p. 1-5, 2016.
- **MANARIM, G. R.** Programa 5S's. 2016. (Apresentação de Trabalho/Conferência ou palestra).
- ALVAREZ, M.R.B. ; SARTORI, J.A.S.; **MANARIM, G.R.**; AGUIAR, C.L. Cor ICUMSA como indicador operacional da qualidade do caldo de cana-de-açúcar. 2016. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
- SARTORI, J.A.S.; MANDRO, J.L.; MAGRI, N.T.C.; **MANARIM, G.R.**; AGUIAR, C.L. Redução de cor do caldo de cana-de-açúcar como efeito do pH em reações de peroxidação. 2016. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
- MANDRO, J.L.; SARTORI, J.A.S.; MAGRI, N.T.C.; **MANARIM, G.R.**; AGUIAR, C.L. Avaliação da eficiência da peroxidação como método alternativo a clarificação do açúcar por cinética química. 2016. (Apresentação de Trabalho/Congresso).
- **MANARIM, G.R.**; SARTORI, J.A.S.; MANDRO, J.L.; AGUIAR, C.L. Separação de clorofilas a, b e total de cana-de-açúcar por cromatografia de adsorção e quantificação por método espectrofotométrico. 2015. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).
- SARTORI, J.A.S.; OGANDO, F.I.B.; **MANARIM, G.R.**; AGUIAR, C.L. Degradação térmica acoplada à ozonização de soluções de sacarose com ácido gálico em processo de clarificação. 2015. (Apresentação de Trabalho/Simpósio).

Epígrafe

“Algo só é impossível até que alguém duvide e resolva provar o contrário.”

Albert Einstein

SUMÁRIO

RESUMO.....	10
ABSTRACT	11
1. INTRODUÇÃO.....	13
Referências	15
2. DIFERENCIAÇÃO DE AMIDOS DE DIFERENTES FONTES VEGETAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN.....	17
Resumo	17
Abstract	17
2.1. INTRODUÇÃO	18
2.2. MATERIAL E MÉTODOS.....	21
2.2.1. Extração de amido de cana-de açúcar	22
2.2.2. Extração de amido dos sorgos granífero e sacarino	22
2.2.3. Análises espectrais de amidos de diferentes fontes vegetais por espectroscopia Raman	23
2.2.4. Tratamento dos espectros médios de amidos por quimiometria.....	23
2.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	23
2.3.1. Diferenciação de espectros Raman de amidos de diferentes fontes vegetais	23
2.3.2. Dendrograma de similaridade entre os amidos de diferentes fontes vegetais	27
2.3.3. Correlação entre cristais de sacarose e amidos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino	28
2.4. CONCLUSÃO.....	29
2.5. AGRADECIMENTOS.....	29
Referências	30
3. EFEITO DA ADIÇÃO DE AMIDO E DEXTRANA NAS ANÁLISES TECNOLÓGICAS DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR.....	35
Resumo	35
Abstract	35
3.1. INTRODUÇÃO	36
3.2. MATERIAL E MÉTODOS	39
3.2.1. Extração de Amido de Cana-de-Açúcar	40
3.2.2. Quantificação de amido.....	41
3.2.3. Quantificação de dextrana	42
3.2.4. Dosagens de amido.....	43
3.2.5. Dosagens de dextrana.....	43
3.2.6. Análises tecnológicas de caldo de cana-de-açúcar	44
3.2.6.1. Fibra%cana	44
3.2.6.2. Brix%caldo (porcentagem em massa de sólidos solúveis)	44
3.2.6.3. Pol%caldo (porcentagem em massa de sacarose aparente)	44
3.2.6.4. Pureza (Q).....	45
3.2.6.5. Pol%cana	45
3.2.6.6. AR%caldo (açúcares redutores do caldo)	45
3.2.6.7. ARC% (açúcares redutores da cana).....	45
3.2.6.8. ATR (Açúcar total recuperado).....	45
3.2.7. Determinação de açúcares	46
3.2.8. Análise microbiológica	46
3.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	47
3.3.1. Interferência do amido nas análises tecnológicas e no pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor	48
3.3.1.1. Concentração de amido em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar	48
3.3.1.2. Efeito da dosagem de amido nas análises tecnológicas da cana-de-açúcar empregando metodologia polarimétrica e refratométrica.....	49
3.3.1.3. Efeito da dosagem de amido nas concentrações de sacarose, glicose e frutose empregando cromatografia líquida ultra rápida (UFLC)	53

3.3.2. Interferência da dextrana nas análises tecnológicas e no pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor	54
3.3.2.1. Concentração de dextrana em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar	54
3.3.2.2. Efeito da dosagem de dextrana nas análises tecnológicas da cana-de-açúcar empregando metodologia polarimétrica e refratométrica	57
3.3.2.3. Efeito da dosagem de dextrana nas concentrações de sacarose, glicose e frutose empregando cromatografia líquida ultra rápida (UFLC)	60
3.4. CONCLUSÃO	61
3.5. AGRADECIMENTOS	62
Referências	63
4. FATORES INTERFERENTES NA QUALIDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR	67
Resumo	67
Abstract	67
4.1. INTRODUÇÃO	68
4.2. MATERIAL E MÉTODOS	70
4.2.1. Análises tecnológicas de caldo de cana-de-açúcar	71
4.2.1.1. Fibras% cana	71
4.2.1.2. Brix% caldo (porcentagem em massa de sólidos solúveis)	71
4.2.1.3. Pol% caldo (porcentagem em massa de sacarose aparente)	71
4.2.1.4. Pureza (Q)	72
4.2.1.5. Pol% cana	72
4.2.1.6. AR% caldo (açúcares redutores do caldo)	72
4.2.1.7. ARC% (açúcares redutores da cana)	72
4.2.1.8. ATR (Açúcar total recuperado)	72
4.2.2. Quantificação de amido	73
4.2.3. Quantificação de dextrana	73
4.2.4. Análise microbiológica	74
4.2.4.1. Contagem de bactérias totais	74
4.2.4.2. Contagem de bolores e leveduras	75
4.3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	76
4.3.1. Estudo de maturação das variedades de cana-de-açúcar CTC11 e IACSP955000	76
4.3.2. Quantificação de amido e dextrana	78
4.3.3. Estudo de tempo entre colheita e processamento	79
4.3.4. Impacto no pagamento de cana-de-açúcar de matéria-prima ainda em maturação	83
4.4. CONCLUSÃO	84
4.5. AGRADECIMENTOS	84
Referências	85

RESUMO

Interferentes analíticos provenientes da colheita, carregamento e transporte nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar

As técnicas analíticas empregadas na determinação da qualidade da cana-de-açúcar são muito importantes para a indústria de processamento dessa matéria-prima, uma vez que é a maneira mais eficiente de determinar a quantidade de sacarose, glicose, frutose e fibras que entra no processo. Aos fornecedores de cana-de-açúcar, é o momento da remuneração pela quantidade e qualidade de cana-de-açúcar que entrega ao processo. O Conselho dos Produtores de Cana-de-açúcar, Açúcar e Álcool do Estado de São Paulo – CONSECANA, determina a metodologia analítica de qualidade dessa matéria-prima e os cálculos para o pagamento da cana-de-açúcar ao fornecedor. Com a proibição da queima desde o ano de 2014 em áreas mecanizáveis, a cana-de-açúcar que entra na indústria tem características, como aumento no teor de amido relacionado a composição do ponteiro, que pode influenciar nos resultados analíticos e causar desvios de leituras pelos atuais equipamentos de polarimetria e refratometria. Assim como o amido, a presença de dextrana no caldo também pode causar desvios de leituras. Com esse cenário, e o interesse do Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados da ESALQ-USP em fornecer estudos de metodologias para a determinação de sacarose, glicose e frutose, como parâmetros analíticos no sistema de avaliação da qualidade de matéria-prima (cana-de-açúcar), por técnicas cromatográficas e espectroscópicas; esse projeto tem o objetivo de trazer contribuições complementares as usinas e destilarias do Estado de São Paulo.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; Técnicas analíticas; Amido; Dextrana; Cromatografia

ABSTRACT

Analytical interfering from harvest, charging and transporte at technological analyses of sugarcane juice

The analytical techniques employee in sugarcane quality determination are very important to industrial process of that raw material, once it is de efficient thing to determinate the quantity of sucrose, glucose, fructose and fibers that come to process. For sugarcane suppliers it is time to receive the payment for the quantity and quality of sugarcane ship to process. The Sugarcane, Sugar and Alcohol Board Producers of São Paulo State – Portuguese initials: CONSECANA, determinate the analytical methods of raw material quality and the payment calculations for sugarcane suppliers. Whit the burn prohibition since 2014 in a mechanical areas the sugarcane in a industrial process has characteristics, how increase of starch associated to top leaves composition, that could to influence analytical results and cause reading deviations for currents equipments of polarimetry and refractometry. Thus starch, the presence of dextran in a sugarcane juice could also cause reading deviations. In this scenario and the interesting of Sucroderivatives Technology Hugot Laboratory at ESALQ-USP to provide studies and methods to determinate sucrose, glucose and fructose how analytical parameters in a evaluation system of raw material (sugarcane) quality to chromatography and spectroscopy techniques; this project aims to bring complementary contribution to sugarcane mills of São Paulo State.

Keywords: Sugarcane; Analytical techniques; Starch; Dextran; Chromatography

1. INTRODUÇÃO

A cana-de-açúcar é a principal matéria-prima para produção de açúcar e etanol no Brasil. Essa cultura é amplamente utilizada pela sua alta produtividade e armazenamento de sacarose relacionado com o seu menor custo de produção. Diante da viabilidade, a qualidade da cana-de-açúcar é um tópico de grande importância, seja como informações para a indústria de processamento, referências agrônômicas, assim como para o pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor.

O Conselho dos Produtores de Cana-de-Açúcar, Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo – CONSECANA, determina as metodologias analíticas de qualidade dessa matéria-prima, abrangendo forma de amostragem da matéria-prima, preparo da cana-de-açúcar, métodos e equipamentos analíticos e cálculos para pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor. Dentre as metodologias e equipamentos, as análises de teor de sacarose e teor de açúcares redutores do caldo são as de maior importância e esses parâmetros são medidos por polarimetria e refratometria, respectivamente (CONSECANA, 2006).

A polarimetria se baseiam em um feixe de luz polarizada que percorre a amostra opticamente ativa linearmente mudando sua rotação em um certo ângulo e direção dependendo das características das substâncias presentes (BARBOSA, 2004). Já a refratometria se baseia no índice de refração da luz ao passar por uma amostra (LEME FILHO, 2006). Desta forma, segundo o CONSECANA o caldo de cana-de-açúcar deve ser submetido a essas metodologias para determinação da qualidade dessa matéria-prima. No entanto, o caldo de cana-de-açúcar é uma substância complexa com diversas substâncias além de sacarose, glicose e frutose.

Amido e dextrana são substâncias encontradas no caldo de cana-de-açúcar, e a maior presença desses compostos passou a ocorrer a partir da promulgação da Lei 11.241, de 19 de setembro de 2002 regulamentada pela Lei Estadual 47.700, de 11 de março de 2003, onde a queima de cana-de-açúcar em áreas mecanizáveis deveria ser minimizada até o ano de 2014, ano esse que passou a ser proibido o emprego da queima. A presença dessas substâncias, solúveis no caldo, são apontadas como causadoras de entupimento de tubulações e filtros nas etapas de processamento do açúcar, aumentando o custo de manutenção industrial, a viscosidade do caldo e inibindo o crescimento dos cristais de açúcar e distorcendo-os (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 1998).

No entanto, alguns estudos mostram a interferência desses compostos nos métodos analíticos empregados atualmente para determinação da qualidade da matéria-prima, onde

desvios de leituras no polarímetro e no refratômetro são observados em caldo com diferentes concentrações desses compostos. Dessa forma, geram não somente dados equivocados do teor de sacarose e açúcares redutores o qual são repassados para a indústria, como também superestimam os valores aumentando assim o valor pago aos fornecedores pela cana-de-açúcar entregue para o processamento (ALVES; AGUIAR; SARMENTO, 2013).

Métodos de alto grau de confiabilidade, como a cromatografia e espectroscopia, podem ser empregados para minimizar os erros analíticos, gerar dados confiáveis e cálculos mais precisos para pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor. Assim o objetivo consistiu em:

- a) avaliar amostras de diferentes fontes de amido por espectroscopia Raman;
- b) acompanhar a maturação de duas variedades de cana-de-açúcar;
- c) dosar diferentes concentrações de amido e de dextrana em solução padrão de sacarose e caldos de cana-de-açúcar verificando suas influências nos resultados de análise tecnológica e no pagamento de cana-de-açúcar, utilizando metodologias polarimétricas e refratométricas;
- d) analisar concentração de sacarose, glicose e frutose em solução padrão de sacarose e caldos de cana-de-açúcar dosados com diferentes concentrações de amido e de dextrana verificando suas influências nos resultados empregando a cromatografia líquida ultra rápida (UFLC);
- e) determinar contaminação por micro-organismos ao longo do período de maturação e em ensaio de tempo entre colheita e processamento das variedades.

Referências

- ALVES, F.V.; AGUIAR, C.L.; SARMENTO, S.B.S. The effects of starch and dextran on technological analyses of sugarcane juice. **Sugar Journal**, v. 76, p. 14–31, 2013.
- BARBOSA, L.C. . **Introdução a química orgânica**. São Paulo: Prentice Hall, 2004, 311 p.
- CONSECANA - CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Manual de Instruções**. 5 ed. Piracicaba: CONSECANA, 2006, 112 p.
- CUDDIHY, J.A.; PORRO, M.E.; RAUH, J.S. Improving sugar recovery with sugar process. **International Sugar Journal**, v. 99, n. 1178, p. 78–84, 1998.
- LEME FILHO, J.R.A. **Estudo comparativo dos métodos de determinação e de estimativa dos teores de fibra e de açúcares redutores em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2006. 151 p. Dissertação (Mestre em Ciências), Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2006.

2. DIFERENCIAÇÃO DE AMIDOS DE DIFERENTES FONTES VEGETAIS POR ESPECTROSCOPIA RAMAN

Resumo

A espectroscopia é uma tecnologia que pode ser utilizada na diferenciação e classificação de substâncias por permitir o estudo de estruturas moleculares. Entre os diferentes tipos, a espectroscopia Raman se destaca por ser uma análise rápida e indestrutível, podendo ser aplicada em linha de produção objetivando melhoria da qualidade de produtos e redução do custo de produção. Recentemente, estudos de análises estruturais de amidos utilizando espectroscopia Raman são realizados para determinação de bandas em amostras de amilose e amilopectina. No setor sucro-energético a técnica ainda não é amplamente utilizada, no entanto dificuldades envolvendo a entrada de amido no processamento de cana-de-açúcar para produção de açúcar, por consequência do aumento da mecanização da colheita e antecipação da safra utilizando sorgo sacarino, permitiu a realização de um estudo de diferenciação de amidos de fontes vegetais distintas utilizando Espectroscopia Raman. Esse é um método de geração de espectros bastante rápido, mostrando-se promissor na diferenciação de amidos. As análises dos espectros médios dos amidos, componentes principais e dendrograma, permitiram o estudo de regiões espectrais e possível correlação com os espectros de amilose e amilopectina disponíveis na literatura. Ainda, essa análise de carboidratos mostrou a relação das bandas dos espectros com os estiramentos de ligações químicas e a deformação endo ou exocíclica da molécula.

Palavras-chave: Espectroscopia; Amido; Bandas espectrais; cana-de-açúcar; Técnicas analíticas

Abstract

Spectroscopy is a technology that can be used in the differentiation and classification of substances by allowing the obtaining of information about molecular structures. Among the different types, Raman spectroscopy stands out as a rapid and indestructible analysis, and can be applied in production line aiming at improving the quality of products and reducing the cost of production. Recently, studies of structural analyzes of starches using Raman spectroscopy are performed for the determination of bands in amylose and amylopectin samples. In the sugar-energy sector the technique is still not widely used, however problematic involving the entry of starch in sugarcane processing for sugar production, as a consequence of increased mechanical harvest and initiation of the harvest using sweet sorghum. allowed to carry out a study of the differentiation of starches from different plant sources using Raman spectroscopy. This is a fairly rapid method of generation of spectra, showing very promising in the differentiation of starches. The analysis of the starches average spectra, principal

components and dendrogram allowed the study of spectral regions and possible correlation with the amylose and amylopectin spectra available in the literature. Further, this carbohydrate analysis showed the ratio of the bands of the spectra to the stretches of chemical bonds and the endo or exocyclic deformation of the molecule.

Keywords: Spectroscopy; Starch; Espectra bands; Sugarcane; Analytical techniques

2.1. Introdução

O amido é um polissacarídeo de grande abundância na natureza. Fotossintetizado, é armazenado em folhas, caules, raízes e frutos com função energética (SILVA et al., 2006). Muitas são as fontes de amido para a área alimentícia, entre elas pode-se destacar batata, milho e mandioca (LEONEL; CEREDA, 2002).

Estruturalmente, o amido é formado por amilose e amilopectina. A amilose tem em sua composição moléculas de glicose e ligações $\alpha(1-4)$, formando uma cadeia linear com 500 a 2000 unidades de glicose. Ocasionalmente, moléculas de glicose podem se unir, através da condensação enzimática, por ligações, além de $\alpha(1-4)$, do tipo $\alpha(1-6)$ resultando em ramificações, no entanto com 25 a 30 unidades de glicose, essa denominada amilopectina (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

Figura 1. Estruturas de A) amilose e B) amilopectina (STORPIRTIS, 2006).

As diferenciações entre os amidos está na quantidade variável de amilose e amilopectina na estrutura. Essa variação está relacionada com a fonte de amido extraído. O milho apresenta entre 25 a 28% de amilose (CORRADINI et al., 2005) e o restante amilopectina, enquanto a batata e a mandioca apresentam 20% de amilose (DAIUTO; CEREDA; CARVALHO, 2002; PERONI, 2003).

Apesar da cana-de-açúcar não ser uma fonte amilácea, diversas dificuldades vem sendo apontadas no processo de fabricação de açúcar, quanto a presença desse polissacarídeo. Dificuldades essas como aumento da viscosidade do caldo de cana-de-açúcar, redução da taxa de filtrabilidade, atraso e distorção no crescimento dos cristais de açúcares e aumento do custo de produção (ARAÚJO, 2003; PÚGLIA, 2006; ALVES; AGUIAR; SARMENTO, 2013). Essas problemáticas são ainda mais intensificadas com a tendência no uso do sorgo sacarino no início de safra. Comparativamente, o sorgo sacarino apresenta maior porcentagem de amido em seu caldo em relação à cana-de-açúcar, conforme descrito por Pacheco (2012) na Tabela 1, sendo necessário a quebra por enzimas α -amilases, elevando assim o custo de produção de etanol (FIGUEIRA, 2009; FRANÇOSO, 2013).

Estudos de entendimento estrutural de amido de cana-de-açúcar e híbridos de sorgo sacarino estão sendo mais intensamente realizados nesses últimos anos, devido o aumento de área de cana-de-açúcar colhida mecanicamente. Alves et al. (2014) em estudo de estrutura e caracterização físico-química de amidos em caldo de cana-de-açúcar e sorgo sacarino reportaram concentrações de amido na ordem de 365 mg.L⁻¹ em caldo de cana-de-açúcar e 1147 mg.L⁻¹ em sorgo sacarino. Andrzejewski et al. (2013) encontraram concentrações médias de amido de 200 e 1691 mg.L⁻¹ em cana-de-açúcar e sorgo sacarino, respectivamente.

Tabela 1. Composição do caldo de sorgo sacarino e de cana-de-açúcar.

Parâmetro	Sorgo Sacarino	Cana-de-Açúcar
Brix caldo	15 – 19	18 – 25
Pureza	60 – 75	80 – 90
Fibra (%)	12 – 20	10 – 15
Sacarose caldo (%)	8 – 13	14 – 22
AR caldo (%)	1 – 3	0,5 – 1
Glicose caldo (%)	0,5 – 2	0,2 – 1
Frutose caldo (%)	0,5 - 1,5	0 - 0,5
ART caldo (%)	12 – 17	15 – 24
Amido caldo (%)	até 0,5	0,001 - 0,05

Fonte: Pacheco (2012).

A porcentagem de amilose em amido de cana-de-açúcar varia de 15 a 20% (VIGNES, 1974; WHAYMAN; WILLERSDORF, 1976; KAMPEN; TAN; CUDDIHY, 1998), em sorgo sacarino 16,4% (ALVES et al., 2014) e em sorgo granífero 11,2 a 22,5% (BENMOUSSA et al., 2006; SINGH; SODHI; NARPINDER, 2010).

Assim faz-se necessário o estudo desses amidos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino para melhor entendimento de sua similaridade aos demais amidos. Uma metodologia aplicada

para diferenciação de substâncias é a espectroscopia, que permite obtenção de informações sobre estrutura molecular.

Essa técnica é amplamente utilizada na caracterização de materiais carbonosos, como diamantes (LOBO et al., 2008), quantificação de biodiesel no diesel (GUARIEIRO et al., 2008), diferenciação de óleos vegetais (SOUZA; POPPI, 2012) e mais recentemente análises estruturais de amidos (FERREIRA, 2008).

Diversas substâncias orgânicas e inorgânicas podem ser encontradas em açúcares, como por exemplo dextrana, amido e sulfito, no entanto, suas concentrações máximas aceitáveis são analisadas de forma a objetivar um produto final de qualidade dentro de especificações desejáveis pelos importadores ou consumidores finais. Assim, a espectroscopia tem o potencial de ser empregada na identificação de bandas de amidos, em linhas de produção de açúcar. Na Tabela 2 é possível visualizar alguns parâmetros de determinação de qualidade de diferentes tipos de açúcares e suas concentrações máximas de amido.

O espectro de uma substância fornece informações das diferenças de energia entre os níveis a partir da interação da radiação eletromagnética com a matéria. A espectroscopia Raman baseia-se na interação da radiação eletromagnética com o movimento de vibração nuclear originando o espalhamento Raman (SALA, 2008).

Tabela 2. Caracterização físico-química de açúcares.

Características	Unidade		Tipos de açúcares					Exportação
			Tipo 1	Tipo 2A	Tipo 2G	Tipo 3	Tipo 4	VVHP
Polarização	°Z	mínimo	99,8	99,7	99,7	99,7	99,5	99,6
Cor ICUMSA	UI	máximo	100	150	150	200	400	450
Sulfito	mg.kg ⁻¹	máximo	15	10	15	15	20	<1
Dextrana	mg.kg ⁻¹	máximo	-	100	100	150	-	100
Amido	mg.kg ⁻¹	máximo	-	180	180	180	-	100
Partículas magnetizáveis	mg.kg ⁻¹	máximo	2	1	1	5	-	-
Granulometria	AM em mm				<0,6			
	CV%				<35			

Fonte: Adaptado de Oliveira, Esquiaveto, Silva Júnior (2007).

Sendo uma forma de espectroscopia vibracional, a espectroscopia Raman, fornece informações sobre os modos de vibração e estruturas moleculares através do espalhamento inelástico da luz (CAREY, 1999), onde essas vibrações tem função em relação a conformação molecular, distribuição dos elétrons em ligações químicas e ambiente molecular (FERREIRA, 2008).

Em linhas de produção já pode ser observado essa tecnologia para determinação de qualidade de alimentos (CORREA, 2012). Uma possível aplicação seria na linha de produção de açúcar visando uma tecnologia analítica de processo (PAT, do inglês “*Process Analytical Technology*”), como forma de redução de custo e maximização da qualidade do produto final.

Com foco na aplicação industrial, faz-se necessário constante calibração do espectrômetro, aumentando assim a confiabilidade da técnica e manutenção da qualidade. Portanto, centenas de espectros conhecidos devem ser gerados para alimentar essa calibração.

A partir das dificuldades do setor sucroenergético quanto a entrada de amido no processo de produção de açúcar e a possibilidade de entendimento estrutural dessa molécula por espectroscopia Raman, o objetivo foi analisar espectros de amidos de cinco fontes vegetais diferentes verificando a similaridade entre eles e se a metodologia pode ser aplicada na diferenciação.

2.2. Material e Métodos

O preparo das amostras de amido assim como as leituras espectroscópicas foram realizadas no Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados, do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP (ESALQ) pertencente à Universidade de São Paulo (USP), município de Piracicaba-SP.

As amostras de amido de milho e batata foram doadas pelo Laboratório de Produtos Amiláceos e Engenharia de Processos da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”.

As matérias-primas para extração do amido também foram doadas, onde a cana-de-açúcar foi obtida por uma usina da região de Piracicaba-SP, o sorgo granífero por um fornecedor da região de Iracemápolis-SP e o sorgo sacarino de uma empresa da região de Campinas-SP.

A sacarose de pureza 99,5% foi obtida da empresa Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil).

O Espectrômetro Raman foi emprestado pela empresa Metrohm para realização desse estudo.

2.2.1. Extração de amido de cana-de-açúcar

A variedade de cana-de-açúcar utilizada nesse estudo foi a RB966928, amplamente cultivada e plantada em todo o estado de São Paulo.

Para a extração de amido foi utilizada a metodologia proposta por Park, Martens, Sato (1985) com modificações nas etapas de retirada de cor do amido. Dois litros do caldo de cana-de-açúcar, extraído pelo método de prensa hidráulica, foram filtrados em peneira de 325 *mesh*, com a finalidade de remover partículas em suspensão. O caldo filtrado foi transferido para frascos de 500 mL e centrifugado a 9000 g por 15 minutos a 5 °C em centrífuga refrigerada Thermo Scientific Modelo Sorvall ST 40R (Waltham, Estados Unidos). O sobrenadante foi descartado e o amido precipitado foi suspenso em água destilada e peneirado em peneiras de 325 *mesh*. O material retido na peneira foi lavado para retirar todo o amido. A suspensão foi centrifugada 5 vezes consecutivas para que o sobrenadante se tornasse límpido. O amido foi re-suspenso em água destilada após a sexta centrifugação e transferido para funil de separação. Para a retirada de compostos de cor foi utilizada a metodologia descrita por Stevenson e Whayman (1976), onde a suspensão de amido e água destilada foi tratada oito vezes com volume igual de clorofórmio. No funil de separação ocorreu a formação em fases da mistura, e assim, a completa remoção dos compostos coloridos. Outras duas centrifugações foram realizadas, sendo a primeira com etanol absoluto e posteriormente com água destilada. O precipitado foi coletado e desidratado em estufa de circulação de ar da marca Fanem modelo 330 (São Paulo, Brasil) a 30 °C por 12 horas. O amido seco foi moído, com pistilo, em almofariz, e passado na peneira de 60 *mesh*.

2.2.2. Extração de amido dos sorgos granífero e sacarino

Sementes híbridas de sorgo granífero e sacarino foram utilizadas para extração de amido. Para iniciar o processo de extração as sementes foram secas e moídas. Em seguida, foi adicionada água destilada obtendo dois litros da mistura. A homogeneização foi realizada em liquidificador por 5 minutos.

As etapas subsequentes foram as mesmas descritas para extração de amido em cana-de-açúcar, iniciando com filtração em peneira de 325 *mesh*, procedendo as centrifugações, retirada dos compostos coloridos, e secagem do amido. Diferentemente do caldo de cana-de-açúcar, em caldo de sorgo sacarino e granífero o clorofórmio foi adicionado seis vezes ao funil de separação na etapa de retirada de compostos de cor.

2.2.3. Análises espectrais de amidos de diferentes fontes vegetais por espectroscopia Raman

O equipamento utilizado foi o Espectrômetro Raman modelo Mira M-1 Advanced Package (Metrohm, São Paulo, Brasil). Utiliza laser classe 3B emitindo um comprimento de onda de 785 nm e potência de saída do laser ≤ 100 mW durante a aquisição dos dados. A faixa espectral é de 400 a 2300 cm^{-1} . A calibração foi realizada através de um vial com padrão oferecido pela empresa. O princípio de funcionamento consiste na incidência do laser sobre a amostra, onde parte luz é refletida e outra transmitida para dentro da material. Uma parte da radiação é retransmitida e a luz espalhada, onde a frequência de espalhamento em relação a frequência incidida vai absorver ou ceder energia e essas vibrações são visualizadas na forma de espectros (RODRIGUES; GALZERANI, 2012).

Para esse estudo, os amidos foram adicionados em “vials” de 12 x 32 mm e então introduzidos ao compartimento de leituras do equipamento e procedeu-se 30 leituras de cada tipo de amido, são eles batata, milho, cana-de-açúcar, sorgo granífero e sorgo sacarino. Cada leitura, cada geração de espectro, foi realizada em 10 segundos. Essa metodologia permitiu uma análise rápida e não destrutiva da amostra.

A obtenção dos resultados foi através de um software, Mira Cal.

2.2.4. Tratamento dos espectros médios de amidos por quimiometria

A análise de componentes principais (PCA, do inglês “*Principal Component Analysis*”) foi realizada através do Matlab Trial Version. Auxiliando nessas análises, foi utilizado um software modular de estatística, XLSTAT do Excel, que proporcionou a verificação por dendrograma da diferenciação dos amidos.

2.3. Resultados e Discussão

2.3.1. Diferenciação de espectros Raman de amidos de diferentes fontes vegetais

Os espectros médios dos cinco tipos de amido são demonstrados na Figura 2.

Diferentes fontes de amido apresentaram espectros com bandas similares e intensidades diferentes.

Figura 2. Espectros médios por espectroscopia Raman dos amidos de batata, milho, cana-de-açúcar, sorgo granífero e sorgo sacarino.

Para carboidratos define-se regiões espectrais em função de modos vibracionais específicos, assim com o auxílio da literatura foi possível determinar as regiões, conforme descrito na Tabela 3 (BARRON et al., 2000; THYGESEN et al., 2003; GELDER et al., 2007).

Tabela 3. Regiões espectrais em função dos modos vibracionais específicos.

Região espectral (cm ⁻¹)	Modo vibracional
< 500	Região do esqueleto da molécula contendo deformações endocíclicas
500 – 700	Região do esqueleto da molécula contendo deformações exocíclicas
700 – 950	Deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH contendo “impressão digital” e estiramentos de ligações C-C
950 – 1200	Estiramento de ligações C-O, com contribuições de ligações C-C
1200 – 1500	Deformações de ligações HCH e CH ₂ OH

Fonte: Mrozek e Weaver (2002).

Houve a identificação de bandas nos espectros de amidos em todas as regiões descrita na Tabela 3. Abaixo de 500 cm⁻¹ foi verificado banda muito forte relacionada ao esqueleto contendo deformações endocíclicas. Na região espectral de 700 a 950 cm⁻¹ está associado a deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH contendo “impressão digital”

com possíveis estiramentos de ligações C-C. Essa “impressão digital”, segundo Thygesen et al. (2003), está relacionado a ligações do tipo $\alpha(1-4)$.

Analizando, através de espectroscopia Raman, amilose e amilopectina, Ferreira (2008) verificou concordância entre as bandas, no entanto em intensidades diferentes. Galvis et al. (2016) também obtiveram espectros médios de amilose. Os espectros gerados pelos cinco tipos de amidos estudados neste trabalho se comparam e relacionam aos espectros de amilose e amilopectina encontrados pelos autores, o que era esperado uma vez que amidos são cadeias de amilose e amilopectina. Portanto as regiões e modos vibracionais se correlacionam.

As Figura 3 e 4 destacam a análise de componentes principais para os cinco tipos de amidos. Dessa forma foi possível observar a diferenciação dos tipos de amidos no espaço.

A porcentagem de variância explicada pelas duas primeiras PCs (PC1 e PC2) foram de 97,05% e 1,45%, respectivamente. Onde a PC2 foi a responsável pela distinção dos agrupamentos. As principais variáveis responsáveis pelo agrupamento foram os intervalos entre 477-482, 857-567, 934-942, 1085-1097, 1122-1130, 1338-1348, 1377-1390 e 1458-1466 cm^{-1} , intervalos esses que correspondem aos picos dos espectros e quimicamente estão relacionado a características endocíclicas e exocíclicas da molécula; deformações de grupos laterais COH, CCH e OCH contendo “impressão digital” e estiramentos de ligações C-C; estiramento de ligações C-O, com contribuições de ligações C-C; e deformações de ligações HCH e CH_2OH .

Figura 3. Escore das PC1 x PC2 (F2) dos cinco tipos de amidos.

O Escore da PC1 x PC2 evidenciou a formação de agrupamentos parcialmente distintos entre os tipos de amido. Foi possível observar três agrupamentos principais, onde o amido de sorgo sacarino se diferencia dos demais; e outros dois agrupamentos, com menor diferenciação entre os tipos de amido, ou seja, a existência de um agrupamento milho/batata e outro cana-de-açúcar/sorgo granífero. Dentre esses dois últimos agrupamentos é possível verificar uma tendência de diferenciação, que poderia ser sanada pela geração de um maior número de espectros, focando assim em uma menor variação entre as leituras de cada amido.

Em estudo proposto por Souza e Poppi (2012) uma diferenciação total foi visualizada com três diferentes tipos de óleos vegetais conhecidos (azeite, oliva e canola) onde após inserir amostras desconhecidas foi possível observar, por nova PC, quais eram os tipos dos óleos. Portanto é possível a utilização de espectroscopia de infravermelho com análises quimiométricas para diferenciar e caracterizar substâncias, como por exemplo amidos de diferentes fontes vegetais.

O escore da PC1 x PC3 mostram também a formação de três agrupamentos, onde o sorgo sacarino se diferencia dos demais, e dentro dos outros dois agrupamentos a nitidez da diferenciação foi menor.

Figura 4. Escore das PC1 x PC3 dos cinco tipos de amidos

A porcentagem de variância explicada pelas duas primeiras PCs (PC1 e PC3) foram de 97,05% e 0,35%, respectivamente. Em uma visão tridimensional essas leituras se

distribuem no espaço espalhando-se por todos os quadrantes, negativos e positivos, no entanto mesmo sendo possível a diferenciação em três agrupamentos esse espalhamento não foi eficiente.

2.3.2. Dendrograma de similaridade entre os amidos de diferentes fontes vegetais

A figura 5 destaca um dendrograma, o qual auxilia a visualização da similaridade entre os amidos.

Primeiramente foi possível observar que amidos de milho e batata não tem similaridade (0%) com os amidos de sorgo sacarino, sorgo granífero e cana-de-açúcar. Entre os grupos de sorgo sacarino, sorgo granífero e cana-de-açúcar, o amido de sorgo sacarino tem uma similaridade de 52% com os demais. Já entre os amidos de sorgo granífero e cana-de-açúcar a similaridade é bastante grande, aproximadamente 94%.

Figura 5. Dendrograma de dissimilaridade entre os cinco tipos de amido.

A caracterização físico-química de amidos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino é estudada para verificar as similaridade. A cana-de-açúcar apresenta amido com grânulos mais uniformes em tamanho e formato, homogeneidade em comprimento da cadeia de amilose e maior número de cadeias laterais longas de amilopectina em relação ao amido de sorgo

sacarino (ALVES et al., 2014). Essa caracterização físico-química auxilia o entendimento da similaridade estrutural de somente 52% entre amidos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino.

Essa forte similaridade entre amido de sorgo granífero e cana-de-açúcar explica o agrupamento nas PCs e menor nitidez de diferenciação. O mesmo aconteceu para amidos de batata e milho que apresentam uma similaridade de 86%.

2.3.3. Correlação entre cristais de sacarose e amidos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino

A Figura 6 apresenta espectros de cristais de sacarose de pureza 99,5% e amidos extraídos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino.

Figura 6. Espectros Raman médios de cristais de sacarose e amidos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino.

Os espectros dos amidos de cana-de-açúcar e sorgo sacarino se relacionam e apresentam bandas muito similares, com pequenas diferenciações estruturais, como já foi visualizado na Figura 2. Já o espectro médio de cristais de sacarose, quando correlacionado com os de amidos, apresenta nítida diferenciação entre as bandas.

A sacarose é um polissacarídeo formado por glicose e frutose, e pode existir bandas similares entre os amidos, uma vez que esses são formados por monômeros de glicose. No entanto, a intensidade nessas bandas, como por exemplo entre os comprimentos de onda 800 e 950, são maiores em relação aos amidos.

Assim, é possível a utilização da espectroscopia Raman em linha de produção de açúcar, pois os cristais de sacarose se diferenciam em relação aos de amido. Ainda é possível, no início da safra, diferenciar os amidos que se agregam aos cristais de açúcares, pois a similaridade entre os amido de cana-de-açúcar e sorgo sacarino é de 52%.

2.4. Conclusão

A espectroscopia Raman é uma metodologia que pode ser empregada para distinguir amidos de diferentes fontes vegetais. No entanto, para maximizar a eficiência do espalhamento nas PCs e ajustar o método é necessário a geração de maiores números de espectros que permitirão uma análise com menor variação.

2.5. Agradecimentos

À Capes e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudo. Ao Laboratório de Produtos Amiláceos e Engenharia de Processos da ESALQ/USP pela doação nos amidos de milho e batata. À usina da região de Piracicaba, ao fornecedor da região de Iracemápolis e a empresa da região de Campinas pelas doações de cana-de-açúcar, sorgo granífero e sorgo sacarino. À equipe do Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados. À empresa parceira Metrohm pelo empréstimo do Espectrômetro Raman.

Referências

- ALVES, F.V.; AGUIAR, C.L.; SARMENTO, S.B.S. The effects of starch and dextran on technological analyses of sugarcane juice. **Sugar Journal**, v. 76, p. 14–31, 2013.
- ALVES, F.V.; POLES, L.F.; AGUIAR, C.L.; SARMENTO, S.B.S. Structural and physicochemical characteristics of starch from sugar cane and sweet sorghum stalks. **Carbohydrate Polymers**, v. 111, p. 592–597, 2014.
- ANDRZEJEWSKI, B.; EGGLESTON, G.; LINGLE, S.; POWELL, R. Development of a sweet sorghum juice clarification method in the manufacture of industrial feedstocks for value-added fermentation products. **Industrial Crops and Products**, v. 44, p. 77–87, 2013.
- ARAÚJO, B.M.M. DE. **Influência de impurezas na cinética de cristalização de sacarose avaliada através da reologia de solução de sacarose**. 2003. 158 p. Dissertação (Mestre em Engenharia de Alimentos), Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2003.
- BARRON, L.D.; HECHT, L.; BLANCH, E.W.; BELL, A.F. Solution structure and dynamics of biomolecules from Raman optical activity. **Progress in Biophysics and Molecular Biology**, v. 73, n. 1, p. 1–49, 2000.
- BENMOUSSA, M.; SUHENDRA, B.; ABOUBACAR, A.; HAMAKER, B.R. Distinctive sorghum starch granule morphologies appear to improve raw starch digestibility. **Starch/Starke**, v. 58, n. 2, p. 92–99, 2006.
- CAREY, P.R. Raman spectroscopy, the sleeping giant in structural biology, awakes. **Journal of Biological Chemistry**, v. 274, n. 38, p. 26625–26628, 1999.
- CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E.S.; CARVALHO, A.J.F.; CURVELO, A.A.S.; MATTOSO, L.H.C. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros**, v. 15, p. 268–273, 2005.
- CORREA, C. **Avaliação do uso de espectroscopia no infravermelho para controle e garantia da qualidade da mistura biodiesel/diesel usando cartas de controle multivariadas**. 2012. 46 p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Química), Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Química, Porto Alegre, 2012.
- DAIUTO, É.R.; CEREDA, M.P.; CARVALHO, L.J.C.B. Características e Propriedades do Amido Extraído de Camadas do Tecido da Raiz de Characteristics and Properties of the Starch Extracted from the Tissue Layers of Cassava. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 5, p. 217–223, 2002.

- FERREIRA, A.L. **Propriedades Vibracionais de Polissacarídeos Naturais**. 2008. 86 p. Dissertação (Mestre em Física), Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
- FIGUEIRA, J.A. **Determinação e caracterização de amido em cana-de-açúcar e adequação de metodologia para determinação de alfa-amilase em açúcar bruto**. 2009. 105 p. Dissertação (Mestre em Ciência de Alimentos), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2009.
- FRANÇOZO, I.L.T. **Efeito da enzima α -amilase na etapa de clarificação do caldo**. 2013. 108 p. Dissertação (Mestra em Ciências), Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2013.
- GALVIS, L.; BERTINETTO, C.G.; PUTAUX, J.L.; MONTESANTI, N.; VUORINEN, T. Crystallite orientation maps in starch granules from polarized Raman spectroscopy (PRS) data. **Carbohydrate Polymers**, v. 154, p. 70–76, 2016.
- GELDER, J.; GUSSEM, K.; VANDENABEELE, P.; MOENS, L. Reference database of Raman spectra of biological molecules. **Journal of Raman Spectroscopy**, v. 38, n. April, p. 1538–1553, 2007.
- GUARIEIRO, L.L.N.; PINTO, A.C.; AGUIAR, P.F.; RIBEIRO, N.M. Metodologia analítica para quantificar o teor de biodiesel na mistura biodiesel:diesel utilizando espectroscopia na região do infravermelho. **Química Nova**, v. 31, n. 2, p. 421–426, 2008.
- KAMPEN, W.H.; TAN, Q.; CUDDIHY, J.A. The action of alpha amylase on sugar cane starch. **Proceedings of the American Society of Sugar Cane Technologists**, p. 17–19, 1998.
- LEONEL, M.; CEREDA, M.P. Caracterização físico-química de algumas tuberosas amiláceas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 22, n. 1, p. 65–69, jan. 2002.
- LOBO, A.O.; MARTIN, A.A.; ANTUNES, E.F.; TRAVA-AIROLDI, V.J.; CORAT, E.J. Caracterização de materiais carbonosos por espectroscopia Raman. **Revista Brasileira de Aplicações de Vácuo**, v. 24, n. 2, p. 98–103, 2008.
- MROZEK, M.F.; WEAVER, M.J. Detection and identification of aqueous saccharides by using surface-enhanced Raman spectroscopy. **Analytical Chemistry**, v. 74, n. 16, p. 4069–4075, 2002.
- OLIVEIRA, D.T.; ESQUIAVETO, M.M.M.; SILVA JÚNIOR, J.F. Impacto dos itens da especificação do açúcar na indústria alimentícia. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 99–102, ago. 2007.
- PACHECO, T. **Índices Tecnológicos Industriais para Produção de Etanol de Sorgo Sacarino**, Embrapa Agroenergia, 2012.

- PARK, Y.K.; MARTENS, I.S.H.; SATO, H.H. Enzymatic removal of starch from sugarcane juice during sugarcane processing. **Process Biochemistry**, v. 20, n. 2, p. 57–59, 1985.
- PERONI, F. H. G. **Características estruturais e físico-químicas de amidos obtidos de diferentes fontes botânicas**. 2003. 118 p. Dissertação (Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto, 2003.
- PÚGLIA, A.L. **Desempenho de leveduras selvagens com potencial de produção de enzimas amilolíticas em processo fermentativo**. 2006. 42 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2006.
- RODRIGUES, A.G.; GALZERANI, J.C. Espectroscopias de infravermelho, Raman e de fotoluminescência: potencialidades e complementariedades. *Revista Brasileira de Ensino de Física*, v. 34, n. 4, 4309, 2012.
- SALA, O. Introdução. In: **Fundamentos da Espectroscopia Raman e no Infravermelho**. São Paulo, Editora: UNESP, 2ª ed, p. 13–21, 2008.
- SILVA, G.D.O.; TAKIZAWA, F.F.; PEDROSO, R.A.; FRANCO, C.M.L.; LEONEL, M.; SARMENTO, S.B.S.; DEMIATE, I.M. Características físico-químicas de amidos modificados de grau alimentício comercializados no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 1, p. 188–197, 2006.
- SINGH, H.; SODHI, N.S.; NARPINDER, S. Characterization of starches separated from sorghum cultivars grown in India. **Food Chemistry**, v. 119, p. 95–100, 2010.
- SOUZA, A.M.; POPPI, R.J. Experimento didático de quimiometria parte I. **Química Nova**, v. 35, n. 1, p. 223–229, 2012.
- STEVENSON, J.C.; WHAYMAN, E. Cane starch. Part I. Isolation and iodine affinity. **International Sugar Journal**, v. 78, p. 44–46, 1976.
- STORPIRTIS, S. Carbohidratos en alimentos regionales iberoamericanos. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 42, n. 4, p. 646 p., 2006.
- TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 151–165, 2004.
- THYGESEN, L.G.; LOKKE, M.M.; MICKLANDER, E.; ENGELSEN, S.B. Vibrational microspectroscopy of food. Raman vs. FT-IR. **Trends in Food Science and Technology**, v. 14, n. 1–2, p. 50–57, 2003.
- VIGNES, E. Notes on cane starch and its determinations. **Proc. ISSCT**, p. 1288–1295, 1974.

WHAYMAN, E.; WILLERSDORF, A.L. Cane starch. Part II. Starch components and their iodine complex spectra. **International Sugar Journal**, v. 78, p. 67–68, 1976.

3. EFEITO DA ADIÇÃO DE AMIDO E DEXTRANA NAS ANÁLISES TECNOLÓGICAS DO CALDO DE CANA-DE-AÇÚCAR.

Resumo

A qualidade da matéria-prima que entra no processamento é fundamental para obtenção de um produto final de qualidade com menor custo de produção. Fatores intrínsecos e extrínsecos a cana-de-açúcar alteram a qualidade dessa matéria-prima causando dificuldades nos processos industriais e alto impacto econômico pelo aumento dos custos de produção. A entrada de impureza vegetal e mineral no processo, e portanto presença de amido e dextrana no caldo de cana-de-açúcar, causam não somente redução da cristalização do açúcar, aumento da viscosidade do caldo e redução da filtrabilidade, como também influenciam metodologias analíticas de determinação de °Brix e Pol, podendo super-estimar os valores de ATR e, portanto, erroneamente calcular o pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor. Assim o objetivo foi analisar a interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas do caldo, empregando as metodologias atualmente utilizadas pelo setor - polarimetria e refratometria, em solução de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar das variedades CTC11 e IACSP955000, confrontando os dados com os resultados apresentados por cromatografia líquida ultra rápida. Foi observado para ensaios de adição de amido e dextrana que o aumento da concentração desses interferentes aumentou os valores das leituras polarimétricas, enquanto que para a refratometria somente a adição de dextrana causaram desvios significativos de leituras. Confrontando com os dados de cromatografia, uma metodologia de maior precisão, não houve variação nos resultados em relação ao aumento da concentração dos interferentes, ausentando de erros os dados fornecidos a indústria e a base de pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; Erro analítico; Amido; Dextrana; Cromatografia

Abstract

The quality of the raw material that enters the processing is fundamental to obtain a final product of quality with lower cost of production. Intrinsic and extrinsic factors of sugarcane change the quality of this raw material causing industrial problems and high economic impact by increasing production costs. The input of vegetable and mineral impurity to the process, and therefore the presence of starch and dextran no sugarcane juice, cause reduction of sugar crystallization, increase of the viscosity of the sugarcane juice and reduction of the filtrability, but also influence analytical methodologies of Brix and Pol determination, being able to overestimate the values of ATR and, therefore, erroneously calculate the payment of sugarcane to the supplier. The aim of this study was to analyze the interference of starch and dextran in the technological analysis of sugarcane juice, using the methodologies currently used by the industry -

polarimetry and refractometry, on sucrose solution and sugarcane juice of CTC11 and IACSP955000 varieties, confronting the data with ultra-fast liquid chromatography results. It was observed for starch and dextran addition studies that the increase in the concentration of these interferents increased the values of the polarimetric readings, whereas for the refractometry only the addition of dextran caused significant deviations of the readings. In contrast to the chromatography data, a more accurate methodology, there was no variation in the results in relation to the increase of the concentration of the interferents, absent from errors the data supplied to the industry and the sugar cane payment basis to the supplier.

Keywords: Sugarcane; Analytical error; Starch; Dextran; Chromatography

3.1. Introdução

A principal matéria-prima para a produção de açúcar e etanol no Brasil é a cana-de-açúcar (*Saccharum* spp.). O Brasil destaca-se como o maior produtor dessa matéria-prima, com uma produção estimada para a safra 2016/17 de 684,77 milhões de toneladas, um aumento de 2,9% em relação a safra anterior, em uma área de 8,973 milhões de hectares. A produtividade média estimada para a safra atual é de 76,313 ton/ha (CONAB, 2016).

É notável a importância da cultura para o setor sucro-energético e dessa forma a qualidade da matéria-prima deve ser monitorada. A presença de impurezas na matéria-prima influencia diversas variáveis do caldo, como Brix e Pol (YATES, 1996).

Dentre os principais estados produtores, destaca-se o estado de São Paulo como o maior produtor brasileiro, representando 52,3% da área total de cana-de-açúcar do Brasil (CONAB, 2016). O Conselho dos Produtores de Cana-de-Açúcar, Açúcar e Alcool do Estado de São Paulo – CONSECANA, determina os parâmetros de qualidade da cana-de-açúcar permitindo que valores, como teor de sacarose e teor de açúcares redutores sejam informados para a processo industrial, setor agrícola e sejam utilizados nos cálculos de pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor (CONSECANA, 2006).

Na colheita mecanizada de cana-de-açúcar se intensificou a partir da promulgação da Lei 11.241, de 19 de setembro de 2002 regulamentada pela Lei Estadual 47.700, de 11 de março de 2003, onde a queima de cana-de-açúcar em áreas mecanizáveis deveria ser minimizada até o ano de 2014, ano esse que passou a ser proibido o emprego da queima. Com isso, algumas dificuldades passaram a ser observadas nas etapas de processamento da matéria-prima, como o aumento nos entupimentos de tubulações e filtros, aumento de viscosidade do

caldo e atraso e distorção na formação dos cristais de açúcares, devido o aumento da concentração de amido e dextrana no caldo (ROBERTS et al., 1976).

O aumento da concentração de amido do caldo está relacionado ao aumento de ponteiros, folhas e palhas que entram no processamento. A presença dessas impurezas vegetais são resultado de um canavial heterogêneo em tamanho de plantas (BRAUNBECK; OLIVEIRA, 2006) baixa eficiência de desponte da colhedora, inabilidade do operador do despontador podendo ser agravado pelos períodos diurnos e noturnos de colheita (NORONHA et al., 2011). Já o aumento da concentração de dextrana está relacionado ao aumento da quantidade de solo que entra no processo e consequentemente bactérias, como a *Leuconostoc* spp. (TROST; STELLE, 2002). Essa impureza mineral no caldo é resultado de uma deficiência na regulagem da barra de corte da colhedora e de má-afiação, podendo se agravar com os períodos chuvosos.

A dextrana é um polissacarídeo de cadeia longa e fórmula molecular $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Figura 7). Esse composto é produzido pela bactéria *Leuconostoc* spp. através da ação da enzima dextranasacarase a qual é induzida pela sacarose presente no caldo convertendo-a em dextrana. A dextrana é uma cadeia de monômeros de glicose unidos por 95% de ligações $\alpha(1-6)$ e nas ramificação por ligações $\alpha(1-2)$, $\alpha(1-3)$ e $\alpha(1-4)$ (AQUINO, 2006).

Figura 7. Representação da estrutura da dextrana. Adaptado de (PIAZZA, 2014).

O amido, na cana-de-açúcar, estruturalmente apresenta 80% de amilopectina e 20% de amilose (Figura 8) em sua composição (KAMPEN, 2006). Naturalmente é sintetizado pela planta e nas folhas armazenado como fonte de energia (BOYES, 1958).

Ambos polissacarídeos, amido e dextrana, interferem nos processos de clarificação, filtração e cristalização tornando se parte constituinte dos cristais de açúcares (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2001).

Figura 8. Estruturas químicas da a) amilose e b) amilopectina, adaptado de Corradini et al. (2005).

No entanto, são raros os estudos realizados quanto a interferência de amido e dextrana nas metodologias analíticas empregadas na atualidade para determinação de qualidade da cana-de-açúcar. A presença de amido e dextrana no caldo dessa matéria-prima podem alterar os valores de Pol%caldo e Brix%caldo super ou sub-estimando, e consequentemente os valores de ATR e pagamento de cana apresentarão erros (ALVES; AGUIAR; SARMENTO, 2013), uma vez que esses últimos são calculados a partir de equações que levam em consideração valores de Pol e Brix (CONSECANA, 2006).

Alguns estudos mostram que diferentes concentrações de adição de amido e dextrana podem causar desvios de leituras em polarímetros e refratômetros, sendo mais significativos na refratometria (DE LA ROSA, 1998; ALVES; AGUIAR; SARMENTO, 2013).

O polarímetro e o refratômetro são equipamentos utilizados para realização de leituras de teor de sacarose do caldo e teor de açúcares redutores, respectivamente. Essas metodologias são regidas pelo CONSECANA, e como método oficial no estado de São Paulo e baixos custos de análise e aquisição e manutenção de equipamentos, as usinas e destilarias as adotam para determinar a qualidade da matéria-prima que chega para o processamento.

A refratometria se baseia no índice de refração da luz ao passar por uma substância. Cada substância apresenta uma variação diferente do índice de refração (LEME FILHO, 2006). Apesar de não ser uma medição exata, é uma relação bastante aproximada do real percentual em massa de sólidos solúveis, pois as concentrações de açúcares são as mais abundantes em caldo de cana-de-açúcar. Entretanto o aumento de concentrações de amido e dextrana no caldo de cana-de-açúcar pode influenciar nas variações do índice de refração.

O polarímetro permite analisar teor de sacarose do caldo de cana-de-açúcar baseando-se no desvio do plano da luz polarizada sobre a amostra (BARBOSA, 2004). Portanto, os diferentes valores ópticos específicos das substâncias presentes no caldo, podem desviar o plano da luz para a direita ou para esquerda em diferentes intensidades. Conhecidamente a

sacarose, o amido e a dextrana são dextrógiros e desviam o plano da luz para a direita, dessa forma maiores valores de $^{\circ}\text{S}$ podem ser observados em amostras de caldo de cana-de-açúcar com altas concentrações desses interferentes, gerando assim dados errôneos quanto ao valor de ATR da cana-de-açúcar e equivocados pagamentos aos fornecedores.

Alternativamente, amostras de caldo de cana-de-açúcar podem ser analisadas quanto a concentração de sacarose e açúcares redutores por cromatografia. Essa metodologia permite analisar teores de sacarose, glicose e frutose com maior precisão e exatidão, relacionando a concentração detectada com as concentrações das curvas de calibração de substâncias e valores conhecidos. Assim, o emprego dessa metodologia possibilita a geração de resultados mais confiáveis para o sistema de pagamento de cana-de-açúcar.

Dessa forma, o objetivo foi analisar as variações nos resultados obtidos por polarimetria e refratometria em caldo de cana-de-açúcar em três diferentes tempos de pátio e em solução padrão de sacarose, confrontando-os com os resultados obtidos por cromatografia líquida ultra rápida (UFLC) e mostrando as consequências desses desvios no pagamento de cana-de-açúcar ao produtor.

3.2. Material e Métodos

As variedades de cana-de-açúcar utilizadas foram CTC11 e IACSP955000 doadas por uma indústria sucro-energética da região de Piracicaba. Ambas, foram plantadas em ambiente de produção “A”, em solos classificados como Latossolo Vermelho Eutrófico e o ciclo de produção escolhido foi a primeira soca. O mês de colheita foi o de setembro, objetivando a máxima maturação das variedades. Os colmos foram picados, semelhante os cortes realizados pela colhedora.

O processamento ocorreu imediatamente (0 h), 48 h e 120 h após a colheita, simulando o tempo entre colheita e processamento. Para cada variedade e cada tempo entre colheita e processamento foram realizadas três pesagens de 500 g de cana-de-açúcar desfibrada para extração do caldo por prensa hidráulica com 250 kgf.cm^{-2} por um minuto. O bolo úmido foi pesado para determinação do teor de fibra. O caldo foi filtrado em algodão.

Para extração de amido, foi submetido a prensa hidráulica o restante da cana-de-açúcar desfibrada, assim foi coletado aproximadamente dois litros de caldo de cada variedade.

Comercialmente foram adquiridas a dextrana de 40.000 Da e a sacarose padrão da empresa Sigma Aldrich (São Paulo, Brasil).

A solução padrão de sacarose foi preparada levando em consideração os valores de Brix das variedades utilizadas, média de 18 °Brix, segundo a tabela de concentração de sacarose (g.mL^{-1}) em função do Brix a 20 °C (ICUMSA METHODS BOOK, 2005).

As análises foram realizadas no Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados, do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) pertencente à Universidade de São Paulo (USP), município de Piracicaba-SP.

3.2.1. Extração de Amido de Cana-de-Açúcar

A extração de amido foi realizada segundo metodologia proposta por Park, Martens, Sato (1985) com modificações nas etapas de retirada de compostos de cor. Dois litros do caldo de cana-de-açúcar, extraído pelo método de prensa hidráulica, foram filtrados em peneira de 325 *mesh*, com a finalidade de remover partículas em suspensão. O caldo filtrado foi transferido para frascos de 500 mL e centrifugado a 9000 g por 15 minutos a 5 °C em centrífuga refrigerada Thermo Scientific Modelo Sorvall ST 40R (Waltham, Estados Unidos). O sobrenadante foi descartado e o amido precipitado foi suspenso em água destilada e peneirado em peneiras de 325 *mesh*. O material retido na peneira foi lavado para retirar todo o amido. A suspensão foi centrifugada 5 vezes consecutivas para que o sobrenadante se tornasse límpido. Após a sexta centrifugação, o amido foi re-suspenso em água destilada e transferido para funil de separação. Para a retirada de compostos de cor foi utilizada a metodologia descrita por Stevenson e Whayman (1976), onde a suspensão de amido e água destilada foi tratada oito vezes com volume igual de clorofórmio. No funil de separação ocorreu a formação em fases da mistura, até ser possível a completa remoção dos compostos coloridos. Outras duas centrifugações foram realizadas, sendo a primeira com etanol absoluto e posteriormente com água destilada. O precipitado foi coletado e desidratado em estufa de circulação de ar da marca Fanem modelo 330 (São Paulo, Brasil) a 30 °C por 12 horas. O amido seco foi moído com pistilo em almofariz e passado na peneira de 60 *mesh*. A figura 9 destaca um fluxograma da extração de amido.

Figura 9. Fluxograma da extração de amido (STEVENSON; WHAYMAN, 1976; PARK; MARTENS; SATO, 1985).

3.2.2. Quantificação de amido

Para determinar o amido de solução padrão de sacarose e caldo de cana-de-açúcar foi utilizado o método Copersucar (2001). Foram pesados, em quatro balões volumétricos, 3,6 g caldo de cana-de-açúcar, onde o balão 1 foi considerado o branco e os demais amostras. A esses balões foram adicionados 15 mL de solução de cloreto de cálcio 40% (m/m), corrigidos para pH 3,0 com solução de ácido acético 0,030 mol.L⁻¹ e, em banho de água em ebulição permaneceram por 15 minutos, com a finalidade de solubilizar todo o amido presente nas amostras. Após o banho, os balões foram resfriados em água corrente até temperatura ambiente. Ao atingir temperatura ambiente, foram adicionados 15 mL de solução de ácido acético 0,030 mol.L⁻¹ em todos os balões e 10 mL de solução de iodeto/iodato de potássio (solução preparada no momento do uso com 10 mL de iodeto de potássio 10% (m/v), 90 mL de água ultrapura e 100 mL de iodato de potássio 0,0017 mol.L⁻¹), exceto no branco,

permitindo a complexação amido-iodo. Após homogeneização, foram aguardados 10 minutos para realização das leituras de absorbância em espectrofotômetro marca Shimadzu modelo UV-Mini 1240 a 700 nm.

As concentrações de amido presentes nas soluções padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar foram determinadas a partir da relação da absorbância com a concentração em uma curva de calibração que variou de 0 a 500 mg.L⁻¹.

3.2.3. Quantificação de dextrana

A determinação foi realizada pela metodologia proposta por Roberts (1983). Onde, à 10 mL da solução padrão de sacarose ou caldo de cana-de-açúcar foi adicionado 0,35 g de terra diatomácea e 1 mL de solução de ácido tricloroacético 10%. Após homogeneização por 5 minutos, 40 mL de etanol absoluto foi adicionado para precipitação do polissacarídeo; foram aguardados 5 minutos. Após esse período foi realizada a filtração a vácuo em funil Buchner. Foi procedido, cinco vezes consecutivas, a lavagem do retido com 10 mL de solução de etanol 80%, para retirar todo o açúcar que possa interferir na análise. Todo o conteúdo retido no filtro foi transferido para balão de 25 mL, o volume foi ajustado com água destilada e foi realizada a filtração em papel filtro de 110 mm, objetivando a coleta do filtrado.

Em tubo para centrifugação foi adicionado 2 mL de solução de hidróxido de sódio 2,5 mol.L⁻¹, 10 mL do filtrado e 2 mL de reagente Cooper (reagente esse preparado no momento do uso com 50 mL de água destilada, 50 mL de uma solução sulfato de cobre penta hidratado com citrato de sódio e 12,5 g de sulfato de sódio anidro). Essa suspensão foi colocada em banho de água em ebulição por 5 minutos, com a finalidade de precipitar o complexo dextrana-cooper. Após esse período, foi aguardado o resfriamento a temperatura ambiente e procedido a centrifugação a 5000 g por 30 minutos, permitindo compactar o sedimento. O sobrenadante foi descartado e 10 mL de solução lavagem (preparado com 50 mL de água destilada, 10 mL de reagente Cooper e 10 mL de solução de hidróxido de sódio 2,5 mol.L⁻¹) foi adicionada para suspender os sedimentos. Uma nova centrifugação foi realizada, nas mesmas condições da anterior. O sobrenadante foi descartado e os tubos virados de cabeça para baixo, por 5 minutos, em papel absorvente para retirar o excesso de solução lavagem. Foi adicionado 2 mL de solução de ácido sulfúrico 1 mol.L⁻¹ ao tubo e transferido quantitativamente para balão de 10 mL. Uma nova alíquota de 2 mL foi adicionado ao tubo e novamente transferido para o mesmo balão. O volume foi ajustado com água destilada.

Para realização do teste Fenol-Ácido Sulfúrico, 2 mL da solução do balão foi adicionado ao tubo de ensaio, para o branco adicionou-se 2 mL de água destilada. Foi pipetado 1 mL de solução fenol 5% e com dispensador, rapidamente, foi adicionado 10 mL de ácido sulfúrico concentrado, com isso o ácido se misturou completamente com a solução aquosa promovendo o máximo de calor. Os tubos foram colocados em banho de água em ebulição por 2 minutos para o desenvolvimento completo de cor. Foi aguardado o resfriamento a temperatura ambiente e procedida a leitura de absorbâncias em espectrofotômetro marca Shimadzu modelo UV-Mini 1240 em comprimento de onda 485 nm.

As concentrações foram determinadas a partir de uma curva de calibração, onde as concentrações de dextrana variaram de 0,01 a 0,10 mg.mL⁻¹.

3.2.4. Dosagens de amido

Dosagens de amido foram realizadas em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar. A dosagem em solução padrão de sacarose permitiram analisar as interferências do amido nas leituras polarimétricas e refratométricas em meio conhecido, ou seja, em solução de água, sacarose e o amido dosado.

A concentração de amido na cana-de-açúcar difere em relação a variedade e período de maturação, no entanto as dosagens escolhidas para esse trabalho se basearam nos valores encontrados na literatura e são 0, 100, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 mg.L⁻¹ (GODSHALL et al., 1996; FIGUEIRA; ZOZZI et al., 2010; CARVALHO; SATO, 2011; ALVES; AGUIAR; SARMENTO, 2013).

Após a quantificação de amido presente na solução padrão de sacarose e em caldos de cana-de-açúcar foram realizadas as dosagens e em agitador magnético Tecnal (Piracicaba, São Paulo, Brasil) as suspensões foram homogeneizadas por 1 minuto.

Foram procedidas as leituras cromatográficas, polarimétricas e refratométricas.

3.2.5. Dosagens de dextrana

Dosagens de dextrana foram realizadas em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar. A dosagem em solução padrão de sacarose também permitiram analisar as interferências da dextrana nas leituras polarimétricas e refratométricas em meio conhecido.

As concentrações de dextrana em cana-de-açúcar diferem em relação ao período chuvoso, tipo de colheita e variedade, no entanto, assim como para o amido, na literatura são encontradas concentrações de 0, 100, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 mg.L⁻¹ (BRADBURY et al., 1986; KAMPEN; TAN; CUDDIHY, 1998).

Após a quantificação de dextrana presente na solução padrão de sacarose e em caldos de cana-de-açúcar foram realizadas as dosagens, e em agitador magnético Tecnal (Piracicaba, São Paulo, Brasil) as suspensões foram homogeneizadas por 1 minuto.

Foram procedidas as leituras cromatográficas, polarimétricas e refratométricas.

3.2.6. Análises tecnológicas de caldo de cana-de-açúcar

A solução padrão de sacarose e os caldos de cana-de-açúcar dosados foram submetidos as análises tecnológicas de determinação de qualidade de matéria-prima, segundo o Consecana (2006)

3.2.6.1. Fibra%cana

Calculado segundo a norma N-082 (ABNT 16251 NBR 2013), pela equação (1):

$$F = 0,08 \times \text{PBU} + 0,876 \quad (1)$$

Onde,

F: Fibra%cana

PBU: Peso do bolo úmido

3.2.6.2. Brix%caldo (porcentagem em massa de sólidos solúveis)

Medição em refratômetro Bellingham + Stanley Ltd., modelo RFM 712 refractometer com correção automática de temperatura a 20 °C.

3.2.6.3. Pol%caldo (porcentagem em massa de sacarose aparente)

Medição em polarímetro modelo ADS 420 saccharimeter, Bellingham + Stanley Ltd., utilizando como clarificante uma mistura a base de alumínio, a leitura sacarimétrica foi transformada para leitura equivalente em subacetato de chumbo (Equação 2):

$$\text{LPb} = 1,00621 \times \text{LAl} + 0,05117 \quad (2)$$

Onde,

LPb: Leitura sacarimétrica a base de subacetato de chumbo e

LAI: Leitura sacarimétrica obtida com a mistura clarificante a base de alumínio.

A Pol foi calculada a partir da equação 3.

$$\text{Pol\%caldo} = \text{LPb} \times (0,2605 - 0,0009882 \times \text{Brix}) \quad (3)$$

3.2.6.4. Pureza (Q)

Cálculo segundo equação 4.

$$Q = (\text{Pol\%caldo} / \text{Brix\%caldo}) \times 100 \quad (4)$$

3.2.6.5. Pol%cana

Calculada pela equação 5.

$$\text{Pol\%cana} = \text{Pol\%caldo} \times (1 - 0,01 \times F) \times C \quad (5)$$

Onde,

F = Fibra da cana;

C = Coeficiente utilizado para transformação da pol do caldo, extraído pela prensa, em pol da cana, segundo a equação 6.

$$C = 1,0313 - 0,00575 \times F \quad (6)$$

3.2.6.6. AR%caldo (açúcares redutores do caldo)

Calculado pela equação 7.

$$\text{AR\%caldo} = 3,641 - 0,0343 \times Q \quad (7)$$

Onde,

Q: Pureza aparente do caldo.

3.2.6.7. ARC% (açúcares redutores da cana)

Calculado pela equação 8.

$$\text{ARC} = \text{AR\%caldo} \times (1 - 0,01 \times F) \times C \quad (8)$$

Onde,

F: Fibra da cana;

C: Coeficiente.

3.2.6.8. ATR (Açúcar total recuperado)

Conhecendo-se a pol da cana e os açúcares redutores da cana (ARC), o ATR foi calculado pela equação 9.

$$ATR = 10 \times PC \times 1,05263 \times 0,905 + 10 \times ARC \times 0,905 \quad (9)$$

Onde,

10 x PC: Pol por tonelada de cana;

1,05263: Coeficiente estequiométrico para a conversão da sacarose em açúcares redutores;

0,905: Coeficiente de recuperação, para uma perda industrial de 9,5%;

10 x ARC: Açúcares redutores por tonelada de cana.

3.2.7. Determinação de açúcares

As análises de açúcares foram realizadas de acordo com metodologia descrita por Shimadzu Application News (2015). Sacarose, glicose e frutose foram determinadas por um cromatógrafo líquido de alta eficiência com detector de espalhamento de luz evaporativo (UFLC/ELSD-LT) e coluna amino Kromasil 100 (Kromasil 100 NH₂ 5 µm 250 × 46 mm). A fase móvel utilizada foi uma solução mista de acetronitrila/água ultrapura na proporção de 70/30, previamente filtrada em membranas Millipore de 0,45 µm, assim como as amostras. As condições de trabalho foram: fluxo de 1,0 mL.min⁻¹, temperatura do detector igual a 35 °C, pressão de 350 kPa e nitrogênio foi usado como gás de nebulização.

Em triplicata, as análises foram realizadas, onde, o volume de injeção para sacarose foi de 5 µL de cada amostra, o ganho no detector de 3 e tempo de retenção de 10 minutos. Antecedendo as análises quantitativas de sacarose, uma curva de calibração foi preparada nas concentrações de 5 a 30 mg.mL⁻¹.

Para as determinações de glicose e frutose o volume de injeção foi de 20 µL de cada amostra, o ganho no detector de 7 e o tempo de retenção de 10 minutos. Assim como para a sacarose, uma curva de calibração também foi preparada, no entanto, as concentrações foram de 0,1 a 0,6 mg.mL⁻¹.

3.2.8. Análise microbiológica

Contagem de bactérias totais

Para a realização da análise foi importante a esterilização dos materiais e do ambiente de preparo. Assim, as placas de material descartáveis, pipetas, fluxo laminar, canetas, suportes para tubo de ensaio, tesoura e a própria sala foram esterilizados com luz UV

por aproximadamente 30 minutos e previamente desinfetados com álcool 70%. Os demais materiais foram esterilizados em auto clave por 15 minutos a 1 atm de pressão e temperatura de 105 °C.

A técnica utilizada foi a “pour-plate”, onde testes de diluições nas concentrações 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} , foram realizados para obter a melhor diluição para o estudo. Para se obter a diluição 10^{-1} foi homogeneizado, em tubo de ensaio, 1 mL da amostra de caldo de cana-de-açúcar em 9 mL de solução salina 0,85% de cloreto de sódio. Dessa diluição foi pipetado 1 mL em um novo tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina, obtendo-se a diluição 10^{-2} . Para as demais diluições o processo se repetiu até a obtenção da diluição 10^{-6} .

Após os testes de diluições, e em triplicata, as placas de petri foram nomeadas e a elas espalhado 1 mL de cada solução diluída escolhida, obtendo a melhor distribuição. À aliquota espalhada, verte-se 15 mL de meio Plate Cout Ágar (PCA) (Liofilchem Laboratory, Itália) resfriado, em cada uma das placas. O meio foi preparado conforme instruções do fabricante, ou seja, 23,5 g de PCA para cada litro de meio líquido preparado. A homogeneização do inóculo foi realizada em superfície plana com 15 movimentos na forma de oito em sentido horário e outros 15 movimentos no sentido anti-horário. A incubação foi a 35 °C por 48 h e os resultados descritos através da média do somatório da contagem das três placas e expressos em UFC bactérias.mL⁻¹ de amostra ou UFC.mL⁻¹.

3.3. Resultados e discussão

Foi observado, para ensaios de adição de amido e dextrana, que o aumento da concentração desses interferentes aumentou os valores das leituras polarimétricas em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar, enquanto que para leituras refratométricas, em ensaios de adição em solução padrão de sacarose, desvios de leituras somente foram observados para dextrana. O tempo entre colheita e processamento dessa matéria-prima foi estudado, observando que as concentrações de amido e dextrana cresceram em comparação a cana-de-açúcar processada imediatamente após a colheita (0 h após a colheita).

3.3.1. Interferência do amido nas análises tecnológicas e no pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor

3.3.1.1. Concentração de amido em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar

Para a aplicação correta das dosagens de 0, 100, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 mg.L⁻¹, primeiramente analisou-se as concentrações de amido presente no caldo de cana-de-açúcar e em solução de sacarose (Tabela 4), em seguida foram dosadas as diferenças entre as concentrações desejadas e a presente no caldo.

Tabela 4. Concentração de amido presente em solução padrão de sacarose e em caldos de cana-de-açúcar das variedades CTC11 e IACSP955000 em diferentes tempos de pátio.

Tempo entre colheita e processamento (h)	Concentração de amido (mg.L ⁻¹)		
	Solução de sacarose (18 °Brix)	CTC11	IACSP955000
0	0	390,00 b	133,34 c
48	-	310,00 c	495,00 b
120	-	700,00 a	656,66 a

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%.

Em solução padrão de sacarose não foi detectado amido pela metodologia, o que se esperava, visto que a sacarose comercial, utilizada para fazer a solução padrão, apresentava uma pureza de 99,5% (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil). Sendo assim, as doses adicionadas foram exatamente as desejadas.

Na variedade CTC11 a concentração de amido presente no caldo, foi maior do que a concentração de amido na variedade IACSP955000. No entanto, a quantidade de amido presente no caldo de cana-de-açúcar difere, por exemplo, em relação a própria variedade, período do dia que se coleta o material para análise, forma de colheita, fatores climáticos e maturação (BATTA; SINGH, 1986; CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2001; KAMPEN, 2006).

Variações de concentrações de amido também foram observadas nos diferentes tempo entre colheita e processamento dentro de cada variedade. Esse aumento de concentração de amido, em relação ao tempo decorrente entre a colheita e o processamento, foi melhor observado na variedade IACSP955000, onde nas primeiras 48 horas houve um aumento na concentração de 361,66 mg.L⁻¹ de amido e em 120 horas essa variação foi de 523,32 mg.L⁻¹. Esse aumento pode estar relacionado a concentração do amido pela perda de

água por evaporação ou exsudação nas superfícies de contato entre as extremidades dos toletes e o ar. O amido é pouco solúvel em água (SINGH et al., 2003) e portanto não é carregado por ela na exsudação, aumentando assim sua concentração nos colmos com o aumento no tempo entre corte e processamento e a perda da água.

Observando os resultados da variedade CTC11, também foi observado um aumento na concentração de amido em relação ao tempo entre colheita e processamento, no entanto esse aumento pode ser melhor visualizado a 120 horas após a colheita onde a variação foi de 310,00 mg.L⁻¹, menos intensa do que a variedade IACSP955000. Em 48 horas essa variação não aconteceu e as análises mostraram uma menor concentração de amido em relação ao processamento imediatamente após a colheita. Essa ausência de concentração de amido pode ser relacionado a características da própria variedade e local de plantio destinada, pois o talhão dessa variedade tinha plantas com tamanhos bastante heterogêneo o que pode ter influenciado na variação no momento da formação dos feixes e amostras biológicas (TESTER; KARKALAS; QI, 2004).

3.3.1.2. Efeito da dosagem de amido nas análises tecnológicas da cana-de-açúcar empregando metodologia polarimétrica e refratométrica

Os valores de °Brix, Pol%caldo, variação °S, ATR e preço da tonelada de cana em relação a adições crescentes de amido em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar das variedades CTC11 e IACSP955000 em diferentes tempos de pátio são apresentados na Tabela 5.

O aumento da concentração de amido não resultou em diferença significativa a 1% nas leituras refratométricas em solução padrão de sacarose, contrariando o apresentado por Alves, Aguiar, Sarmento (2013) que encontram forte correlação positiva entre leitura refratométrica e adições crescentes de amido em solução de sacarose.

As leituras refratométricas (°Brix) sofreram pequena influência das adições crescentes de amido para o ensaio CTC11 – 48 h após a colheita e para IACSP955000 – 0 h após a colheita, onde leituras de °Brix diferiram significativamente a 1% pelo teste de Tukey em doses a partir de 500 mg.L⁻¹ de amido. Os demais ensaios não foram influenciados pela dose crescente de amido.

Tabela 5. Efeito da adição de amido nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar e em solução padrão de sacarose.

	Concentrações de amido (mg.L ⁻¹)	°Brix	Pol%caldo	Variação (°S)	ATR (kg.t ⁻¹)	Preço da tonelada de cana (R\$)*
Solução de Sacarose 18 °Brix	0	18.00 a	18,63 b	0	152,28 bc	104,88
	100	18.00 a	18,61 b	-0.05	152,20 c	104,82
	500	18.00 a	18,68 a	0.22	152,65 ab	105,13
	1.000	18.00 a	18,73 a	0.43	152,98 a	105,36
	5.000	18.00 a	18,71 a	0.35	152,84 a	105,26
	10.000	18.00 a	18,74 a	0.44	153,00 a	105,37
Caldo CTC11 - 0 h	390	17.23 a	14,11 bc	0	121,31 b	83,55
	500	17.30 a	14,10 c	0	121,36 b	83,58
	1.000	17.23 a	14,12 b	0.05	121,38 b	83,59
	5.000	17.27 a	14,11 bc	0.03	121,37 b	83,59
	10.000	17.30 a	14,16 a	0.24	121,75 a	83,85
Caldo CTC11 - 48 h	310	17.57 b	14,34 c	0	120,65 d	83,09
	500	17.70 a	14,45 a	0.46	121,49 a	83,67
	1.000	17.60 b	14,41 b	0.29	121,14 c	83,43
	5.000	17.70 a	14,41 b	0.31	121,21 bc	83,48
	10.000	17.70 a	14,44 a	0.43	121,43 ab	83,63
Caldo CTC11 - 120 h	700	16.20 a	12,19 b	0	93,13 b	64,14
	1.000	16.27 a	12,21 ab	0.09	93,30 a	64,25
	5.000	16.30 a	12,20 b	0.04	93,26 ab	64,23
	10.000	16.30 a	12,21 a	0.11	93,36 a	64,29
Caldo IACSP955000 - 0 h	133,34	18.37 b	16,08 c	0	135,85 b	93,56
	500	18.50 a	16,10 b	0.15	136,20 a	93,80
	1.000	18.50 a	16,11 ab	0.16	136,21 a	93,81
	5.000	18.50 a	16,11 ab	0.16	136,22 a	93,81
	10.000	18.50 a	16,12 a	0.23	136,33 a	93,89
Caldo IACSP955000 - 48 h	495	19.80 a	17,38 b	0	143,24 b	98,65
	500	19.80 a	17,43 a	0.2	143,56 a	98,87
	1.000	19.80 a	17,40 b	0.09	143,38 b	98,73
	5.000	19.80 a	17,38 b	0.01	143,24 b	98,66
	10.000	19.80 a	17,38 b	0.03	143,28 b	98,67
Caldo IACSP955000 - 120 h	656,66	20.20 a	17,36 b	0	127,15 b	87,57
	1.000	20.20 a	17,40 ab	0.15	127,38 ab	87,73
	5.000	20.20 a	17,43 a	0.28	127,56 a	87,85
	10.000	20.20 a	17,45 a	0.35	127,66 a	87,92

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada ensaio, não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%. *O valor do ATR é disponibilizado mensalmente pelo Consecana, onde o valor no mês de setembro de 2016 foi de 0,6887 R\$/kg ATR.

Baseando-se no índice de refração de substâncias, o Brix pode sofrer influência de, além dos açúcares, outros polissacarídeos dissolvidos no caldo (FAVERO; HAMERSKI; AQUINO, 2014). Portanto, os pequenos desvios observados podem estar relacionados não somente com a adição de amido, mas outras substâncias presentes como proteínas e minerais, uma vez que em solução de sacarose o desvio de leitura não foi observado. O caldo apresenta entre 1 e 2,5% de não açúcares, como por exemplo aminoácidos, óxido de cálcio e óxido de magnésio que são solúveis em água (DELGADO; CESAR, 1977) e portanto podem interferir no índice de refração.

A maior influência desse polissacarídeo aconteceu para as leituras polarimétricas, onde em solução padrão de sacarose a variação de 0,44 °S foi observado entre a dose mínima e máxima de amido. As variações também aconteceram em caldo de cana-de-açúcar independente do tempo de espera da matéria-prima para o processamento. Na variedade CTC11 a variação em 0 h após a colheita foi de 0,24 °S entre as doses mínima e o máxima de amido; e para os tempos de 48 e 120 h após a colheita a variação foi de 0,43 e 0,11 °S, respectivamente. Já para a variedade IACSP955000 a variação em 0 h após a colheita foi de 0,23 °S entre as doses mínima e máxima e para os tempos de pátio de 48 e 120 h foi de 0,03 e 0,35 °S, respectivamente.

O polarímetro é o equipamento que mede o teor de sacarose aparente do caldo, assim um feixe de luz polarizada passa pela amostra e dependendo da sua composição as substâncias desviam opticamente o plano da luz, e esse desvio é medido em °S. O valor óptico específico da sacarose é +66,5° (ZUZZA, 2015), portanto sendo dextrorrotatória (valor positivo) essa molécula desvia o plano da luz polarizada para direita. Enquanto que, o amido também dextrorrotatório, +205° (BRADBURY et al., 1986), também desvia o plano da luz polarizada para a direita, assim a presença dessa substância no caldo pode intensificar o desvio e proporcionar valores de °S super-estimados.

A composição do caldo de cana-de-açúcar é bastante complexa em relação a uma solução padrão de sacarose. Assim, a presença de outras substâncias, como glicose e frutose, também podem alterar os valores de °S, uma vez que são moléculas opticamente ativas e tem poder de desviar o plano da luz polarizada, no entanto esses valores são compensados no polarímetro. A glicose, dextrorrotatória, tem um valor óptico específico de +52,7° e desvia o plano da luz polarizada para a direita, já a frutose com valor específico óptico de -92,3° é

levorrotatória e desvia o plano da luz polarizada para a esquerda (SHALLENBERGER; BIRCH, 1975).

Como reflexo dessa variação de °S, valores de Pol%caldo sofreram influências, pois levam em consideração valores de leituras polarimétricas e refratométricas, segundo CONSECANA. Dessa forma, foi possível observar que o amido influencia mais intensamente os valores de Pol do que o Brix, pois em solução de sacarose o aumento da concentração de amido desviou as leituras significativamente a partir de 500 mg.L⁻¹. Nos caldos das variedades de cana-de-açúcar esses desvios também são significativos principalmente na maior concentração de amido (10.000 mg.L⁻¹) para a variedade CTC11 e 1.000 mg.L⁻¹ para a variedade IACSP955000.

O cálculo de ATR recebe influencia dos dados de Pol e Brix do caldo e portanto também podem ser super-estimados. Informações dos valores de ATR, não só são importantes para a indústria de processamento de cana-de-açúcar, mas são a base para formulação do preço da tonelada de cana-de-açúcar ao fornecedor. Uma vez, que esses dados são influenciados pela concentração de amido presentes no caldo de cana-de-açúcar, essas informações tornam-se equivocadas e o custo da matéria-prima maior. Sendo assim, foi possível observar que os valores de ATR em solução padrão de sacarose diferem em relação ao aumento na concentração de amido a 1% de significância, obtendo diferença significativa entre as doses de 100 mg.L⁻¹ e 500 mg.L⁻¹. Doses maiores de amido, a partir de 1.000 mg.L⁻¹, não diferem entre si. Isso foi observado também para os valores de caldo de cana-de-açúcar para as duas variedades, exceto nos tempos de pátio de 0 h e 48 h após a colheita na variedade CTC11, onde a diferença significativa é visualizada entre as doses máximas.

Assim, com o aumento da concentração de amido o preço da cana-de-açúcar pago para o fornecedor torna-se errôneo. A variação entre as doses máximas e mínimas de amido em R\$.ton⁻¹ de cana-de-açúcar em solução padrão de sacarose foi de R\$ 0,49. Considerando uma moagem média de cana-de-açúcar de 5.000.000 de toneladas por safra em uma usina, o valor excedente pago aos fornecedores seria de R\$ 2.450.000,00. Esse valor poderia ser utilizado para comprar 1,6 colhedoras no valor de R\$ 1.500.000,00, ou aproximadamente 16 caminhonetes no valor de R\$ 150.000,00, ou 1.600.000 mudas pré-brotadas (MPB) no valor de R\$ 1,50/MPB, ou aproximadamente 102 bolsas de estudo de mestrado no valor de R\$ 24.000,00 por ano, ou aproximadamente 51 bolsas de estudo de doutorado no valor de R\$ 48.000,00 por ano, para desenvolver projetos de interesse do setor sucroenergético.

3.3.1.3. Efeito da dosagem de amido nas concentrações de sacarose, glicose e frutose empregando cromatografia líquida ultra rápida (UFLC)

Tabela 6. Efeito da adição de amido nas concentrações de sacarose, glicose e frutose em caldo de cana-de-açúcar e em solução padrão de sacarose pelo emprego da cromatografia líquida ultra rápida.

	Concentrações de amido (mg.L ⁻¹)	Sacarose	Frutose	Glicose
		mg.mL ⁻¹		
Solução de sacarose 18 °Brix	0	184,91 a	-	-
	100	187,10 a	-	-
	500	185,32 a	-	-
	1.000	185,35 a	-	-
	5.000	186,72 a	-	-
	10.000	184,01 a	-	-
Caldo CTC11 – 0 h	390	148,01 a	4,01 a	4,29 a
	500	149,95 a	4,03 a	4,24 a
	1.000	150,61 a	4,10 a	4,26 a
	5.000	148,70 a	4,08 a	4,16 a
	10.000	146,33 a	4,03 a	4,23 a
Caldo CTC11 – 48 h	310	171,99 a	3,99 a	4,23 a
	500	172,65 a	3,97 a	4,16 a
	1.000	171,92 a	4,04 a	4,21 a
	5.000	173,20 a	4,04 a	4,16 a
	10.000	173,17 a	4,00 a	4,27 a
Caldo CTC11 – 120 h	700	146,86 a	6,93 a	6,43 a
	1.000	146,97 a	6,93 a	6,43 a
	5.000	147,02 a	6,95 a	6,48 a
	10.000	147,46 a	6,92 a	6,48 a
Caldo IACSP955000 – 0 h	134,33	178,70 a	2,71 a	2,30 a
	500	179,75 a	2,72 a	2,31 a
	1.000	178,93 a	2,71 a	2,32 a
	5.000	177,53 a	2,68 a	2,30 a
	10.000	177,61 a	2,69 a	2,31 a
Caldo IACSP955000 – 48 h	495	190,60 a	3,56 c	2,26 a
	500	191,23 a	3,55 c	2,26 a
	1.000	190,83 a	3,55 c	2,29 a
	5.000	191,49 a	9,02 b	2,24 a
	10.000	191,13 a	15,24 a	2,25 a
Caldo IACSP955000 – 120 h	656,66	214,17 a	3,28 a	3,35 a
	1.000	214,65 a	3,36 a	3,32 a
	5.000	214,53 a	3,22 a	3,39 a
	10.000	214,61 a	3,19 a	3,38 a

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada ensaio, não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%

Na Tabela 6 é possível observar as concentrações de sacarose, glicose e frutose de caldos de cana-de-açúcar dosados com diferentes concentrações de amido.

Claramente, se visualiza que o aumento da concentração de amido não influenciou as análises de concentração de sacarose, glicose e frutose utilizando cromatógrafo líquido ultra rápido, sendo assim os valores dentro de cada ensaio, independente da variedade de cana-de-açúcar, não diferenciou significativamente a 1%. A exceção ocorreu no ensaio IACSP955000 48 horas após a colheita para concentrações de frutose, onde as maiores dosagens de amido apresentaram diferença significativa a 1%.

Assim, essa metodologia pode ser aplicada na determinação de qualidade da cana-de-açúcar que entra no processamento, pois sendo essa de maior precisão, não sofreu influências dos interferentes. Os resultados gerados são de maior confiabilidade minimizando os erros no cálculo de pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor.

Outras vantagens desse método são a rapidez de análise e a facilidade de manipulação do equipamento. Esse método para determinação de sacarose, glicose e frutose permite ainda uma flexibilidade de preparo e volume menor de amostra para análise (LINDEN; LAWHEAD, 1975). O uso dessa metodologia permite uma redução dos erros de pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor, custo esse que pode ser revertido no custo do equipamento fazendo com que o “*payback*” seja menor.

No mesmo estudo de caso proposto anteriormente, se o excedente pago ao fornecedor é de aproximadamente R\$ 2.450.000,00 por safra e o preço de um cromatógrafo líquido ultra rápido automatizado tem um valor de R\$ 250.000,00 então o laboratório de pagamento de cana-de-açúcar poderia adquirir aproximadamente 10 cromatógrafos por safra para minimizar os erros.

3.3.2. Interferência da dextrana nas análises tecnológicas e no pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor

3.3.2.1. Concentração de dextrana em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar

Para a aplicação correta das dosagens de 0, 100, 500, 1.000, 5.000 e 10.000 mg.L⁻¹, primeiramente analisou-se as concentrações de dextrana presente no caldo de cana-de-açúcar

e em solução de sacarose (Tabela 7), em seguida foram dosadas as diferenças entre as concentrações desejadas e a presente no caldo.

Tabela 7. Concentração de dextrana presente em solução padrão de sacarose e em caldos de cana-de-açúcar das variedades CTC11 e IACSP955000 em diferentes tempos de pátio.

Tempo entre colheita e processamento (h)	Concentração de dextrana (mg.L ⁻¹)		
	Solução de sacarose (18 °Brix)	CTC11	IACSP955000
0	0	8,99 c	8,19 c
48	-	25,22 a	85,36 a
120	-	23,76 b	45,36 b

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%

Em solução padrão de sacarose não foi detectado dextrana pela metodologia, o que se esperava, pois assim como para amido a sacarose comercial utilizada para fazer a solução padrão, apresentava uma pureza de 99,5% (Sigma Aldrich, São Paulo, Brasil). Sendo assim, as doses adicionadas foram exatamente as desejadas.

A variedade CTC11 apresentou concentrações menores de dextrana no caldo em relação a variedade IACSP955000, exceto pelo tempo entre colheita e processamento de 0 h que apesar de maior em valor de concentração não diferiu significativamente da variedade IACSP955000. No entanto, a quantidade de dextrana presente no caldo de cana-de-açúcar difere, por exemplo, em relação ao tipo de solo o qual a variedade foi plantada, produção de sacarose da variedade, períodos chuvosos de colheita, tipo de colheita e taxa de infestação pela bactéria *Leuconostoc* spp. (NICHOLSON; HORSLEY, 1959; AQUINO; FRANCO, 2008; SOUZA SILVA; DA CRUZ, 2016).

Variações de concentrações de dextrana também foram observadas nos diferentes tempo colheita e processamento dentro de cada variedade. Houve um aumento significativo na concentração de dextrana em ambas variedades para o tempo entre colheita e processamento de 48 horas após a colheita, sendo esse aumento de 16,23 mg.L⁻¹ para a variedade CTC11 e 77,17 mg.L⁻¹ para a variedade IACSP955000. Esse aumento está relacionado a rápida reprodução da bactéria em meio com abundância de água e sacarose.

No tempo de espera para o processamento de 120 horas houve uma queda na concentração de dextrana para ambas variedades. A maior queda de concentração de dextrana foi observada na variedade IACSP955000, diminuição essa de aproximadamente 53%. Esse decréscimo pode ser justificado por um caldo com menor degradação microbiológica em

relação ao caldo de processamento de 48 horas após a colheita, devida uma menor infestação pela bactéria.

A Tabela 8 apresenta os dados de contagem de bactérias totais nos caldos de cana-de-açúcar das variedades CTC11 e IACSP955000 para os tempos de pátio analisados.

Tabela 8. Contagem de bactérias totais em caldos das variedades CTC11 e IACSP955000 em diferentes tempos de pátio.

Tempo entre colheita e processamento (h)	Bactérias totais (UFC.mL ⁻¹)	
	CTC11	IACSP955000
0	4,55x10 ⁶ c	9,3x10 ⁶ c
48	6,64x10 ⁶ b	2,2x10 ⁷ a
120	13,15x10 ⁶ a	30,2x10 ⁶ b

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%.

Observa-se que a variedade CTC11 tem menor unidade formadora de colônia de bactérias totais por mililitro de caldo em relação a variedade IACSP955000. A quantidade de bactérias em caldo está relacionado a uma série de fatores como, características intrínsecas a variedade de cana-de-açúcar, o solo que essa variedade está plantada e a quantidade de bactérias presente no mesmo, tipo de colheita e carregamento empregados e tempo entre corte e processamento. Esses fatores isolados em conjunto alteram a qualidade da matéria-prima que será processada.

Dentro das variedades, a tendência foi de aumento de bactérias totais em relação ao aumento do tempo entre colheita e processamento. Isso é perfeitamente observado na variedade CTC11. No entanto, o caldo da variedade IACSP955000 apresentou maior contagem de bactérias em 48 h de tempo entre colheita e processamento. Esse aumento no número de células explica a maior concentração de dextrana no caldo e também o aumento de concentração de frutose em dosagens de amido que pode ser visualizado anteriormente pelo método cromatográfico empregado (Tabela 4), sendo assim há grande presença de micro-organismos nesse caldo.

3.3.2.2. Efeito da dosagem de dextrana nas análises tecnológicas da cana-de-açúcar empregando metodologia polarimétrica e refratométrica

Na tabela 9 observa-se os valores de °Brix, Pol%caldo, variação de °S, ATR e preço da tonelada de cana-de-açúcar ao fornecedor para solução de sacarose e caldos de cana-de-açúcar das variedades CTC11 e IACSP955000.

A influência do aumento da concentração de dextrana em solução padrão de sacarose e em caldo de cana-de-açúcar mostrou-se maior em relação ao aumento de concentração de amido nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar.

As leituras de °Brix sofreram forte influência das adições crescentes de dextrana para o todos os ensaio, diferindo significativamente a 1% pelo teste de Tukey em doses a partir de 1.000 mg.L⁻¹ de dextrana.

Sendo, a dextrana, uma substância solúvel em água, e portanto solúvel também em caldo de cana-de-açúcar, o tamanho das partículas e sua forma, a interação entre elas e a diferença entre o índice de refração das partículas e do meio podem causar diferenças de distribuição da luz espalhada, intensidade e polarização (BAZITO, 2001), justificando os desvios observados nos ensaios.

Também foi observado influência da dextrana nas leituras polarimétricas, onde em solução padrão de sacarose a variação de 11,15 °S foi observado entre a dose mínima e máxima. As variações também aconteceram em caldo de cana-de-açúcar, onde essas variações corresponderam a uma diferença de aproximadamente 10,00 °S para todos os ensaios. O mesmo foi observado por Alves, Aguiar, Sarmiento (2013) com variações de aproximadamente 7,00 °S em adições em solução padrão de sacarose.

Pontuando, no ensaio de adição de dextrana da variedade IACSP955000 com processamento da matéria-prima de 48 h após a colheita, não foi possível obter valores de leituras polarimétricas para as dosagens de 5.000 e 10.000 mg.L⁻¹ de adição de dextrana e, portanto, valores de Pol%caldo, ATR e preço da tonelada de cana-de-açúcar não foram calculados. A ausência de leitura se deu pela saturação da amostra com as doses altas de dextrana associado a degradação do caldo e elevação no número de células bacterianas, conforme observado na Tabela 8, deixando-o turvo e impossibilitando leituras polarimétricas. A recomendação do CONSECANA, na norma N-069, é de que na dificuldade de obter leituras polarimétricas os seguintes procedimentos devem ser tomados na ordem especificada: refiltragem do caldo clarificado; repetição da análise, reprocessando a clarificação do caldo ainda disponível; ou diluição do caldo em proporção 1:1 (v/v) com água destilada, posterior

clarificação, e multiplicação por dois da leitura sacarimétrica. Esses procedimentos foram realizados no entanto persistiu-se a ausência de leituras e portanto foi considerada fora de sistema.

Tabela 9. Efeito da adição de dextrana nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar e em solução padrão de sacarose.

	Concentrações de dextrana (mg.L ⁻¹)	°Brix	Pol%caldo	Variação (°S)	ATR (kg.t ⁻¹)	Preço da tonelada de cana (R\$)*
Solução de Sacarose 18 °Brix	0	18,00 d	18,66 e	0,00	152,51 f	105,03
	100	18,10 cd	18,87 d	0,91	154,08 e	106,12
	500	18,17 cd	18,98 c	1,38	154,91 d	106,69
	1.000	18,20 c	19,11 c	1,90	155,79 c	107,29
	5.000	18,50 b	20,07 b	5,99	162,72 b	112,07
	10.000	18,87 a	21,29 a	11,15	171,49 a	118,10
Caldo CTC11 - 0 h	8,99	17,30 b	13,81 e	0,00	119,42 e	82,24
	100	17,40 b	13,85 de	0,18	119,88 d	82,56
	500	17,43 b	13,87 d	0,30	120,01 d	82,65
	1.000	17,63 ab	14,01 c	0,95	121,18 c	83,46
	5.000	17,70 ab	14,95 b	4,81	127,52 b	87,82
	10.000	18,10 a	16,22 a	10,14	133,57 a	91,99
Caldo CTC11 - 48 h	25,22	17,40 d	13,86 f	0,00	117,30 f	80,79
	100	17,40 d	13,90 e	0,19	117,61 e	81,00
	500	17,40 d	14,03 d	0,70	118,41 d	81,55
	1.000	17,50 c	14,13 c	1,14	119,19 c	82,09
	5.000	17,80 b	15,07 b	5,09	126,47 b	87,10
	10.000	18,20 a	16,26 a	10,09	134,78 a	92,82
Caldo CTC11 - 120 h	23,76	16,23 c	11,84 e	0,00	91,20 e	62,81
	100	16,23 c	11,84 e	0,00	91,21 e	62,82
	500	16,30 c	11,95 d	0,45	91,76 d	63,19
	1.000	16,30 c	12,09 c	1,02	92,40 c	63,64
	5.000	16,63 b	13,02 b	4,91	97,89 b	67,42
	10.000	17,00 a	14,25 a	10,01	105,09 a	72,37
Caldo IACSP955000 - 0 h	8,19	18,37 e	15,85 e	0,00	134,35 e	92,52
	100	18,40 de	15,90 e	0,19	134,96 de	92,94
	500	18,50 cd	15,99 d	0,62	135,32 d	93,20
	1.000	18,53 c	16,14 c	1,25	136,50 c	94,01
	5.000	18,80 b	17,12 b	5,35	143,39 b	98,75
	10.000	19,20 a	18,31 a	10,41	148,71 a	102,42
Caldo	85,36	19,63 c	17,06 c	0,00	14096 c	97,08

IACSP955000 - 48 h	100	19,77 c	17,21 ab	0,64	142,07 b	97,84
	500	19,80 bc	17,18 b	0,53	141,92 b	97,74
	1.000	19,80 bc	17,30 a	1,04	142,73 a	98,30
	5.000	20,10 b	nl**	nl	nl	nl
	10.000	20,50 a	nl	nl	nl	nl
Caldo IACSP955000 - 120 h	45,36	20,20 d	17,27 f	0,00	126,60 f	87,19
	100	20,20 d	17,33 e	0,28	127,00 e	87,46
	500	20,20 d	17,42 d	0,65	127,35 d	87,71
	1.000	20,30 c	17,58 c	1,34	128,21 c	88,30
	5.000	20,57 b	18,54 b	5,38	133,92 b	92,23
	10.000	20,90 a	19,67 a	10,21	140,77 a	96,95

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada ensaio, não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%. *O valor do ATR é disponibilizado mensalmente pelo Consecana, onde o valor no mês de setembro de 2016 foi de 0,6887 R\$/kg ATR. **nl: sem leitura.

Assim como para amido, em dosagens de dextrana valores de Pol%caldo sofreram influências. Dessa forma, foi observado que em todos os ensaios a dosagem de dextrana diferiu significativamente entre si no cálculo de Pol%caldo. Isso é reflexo de variações ocorridas tanto nas leituras refratométricas quanto nas leituras polarimétricas. Como a rotação óptica específica da dextrana é aproximadamente 3 vezes maior do que a da sacarose, ela resulta em influência na polarização da luz do sacarímetro podendo causar leituras equivocadas (CLARKE et al., 1997; GUGLIELMONE et al., 2000), assim os cálculos de Pol%cana são também influenciados pelo polissacarídeo.

Os valores do ATR seguiram a mesma tendência da Pol%caldo, assim foi possível observar que os valores de ATR em solução padrão de sacarose diferem entre si em relação ao aumento na concentração de dextrana a 1% de significância.

Assim, com o aumento da concentração de dextrana o preço da cana-de-açúcar pago para o fornecedor torna-se errôneo. A variação entre as doses máximas e mínimas de dextrana em R\$.ton⁻¹ de cana-de-açúcar em solução padrão de sacarose foi de R\$ 13,07. Considerando uma moagem média de cana-de-açúcar de 5.000.000 de toneladas por safra em uma usina, o valor excedente pago aos fornecedores seria de R\$ 65.350.000,00. Esse valor poderia ser utilizado para comprar aproximadamente 43 colhedoras no valor de R\$ 1.500.000,00, ou aproximadamente 435 caminhonetes no valor de R\$ 150.000,00, ou aproximadamente 43.600.000 mudas pré-brotadas (MPB) por ano no valor de R\$ 1,50/MPB, ou aproximadamente 2.700 bolsas de estudo de mestrado no valor de R\$ 24.000,00 por ano, ou

aproximadamente 1.300 bolsas e estudo de doutorado no valor de R\$ 48.000,00 por ano, para desenvolver projetos de interesse do setor sucroenergético.

3.3.2.3. Efeito da dosagem de dextrana nas concentrações de sacarose, glicose e frutose empregando cromatografia líquida ultra rápida (UFLC)

Tabela 10. Efeito da adição de dextrana nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar e em solução padrão de sacarose pelo emprego da cromatografia líquida ultra rápida.

	Concentrações de dextrana (mg.L ⁻¹)	Sacarose	Frutose	Glicose
		mg.mL ⁻¹		
Solução de sacarose 18 °Brix	0	195,30 a	-	-
	100	195,58 a	-	-
	500	197,90 a	-	-
	1.000	198,32 a	-	-
	5.000	197,49 a	-	-
	10.000	196,59 a	-	-
Caldo CTC11 – 0 h	8,99	167,84 a	7,98 a	6,07 a
	100	166,93 a	7,95 a	6,04 a
	500	165,59 a	7,94 a	6,04 a
	1.000	166,47 a	8,00 a	6,03 a
	5.000	167,44 a	8,01 a	6,07 a
	10.000	166,66 a	7,97 a	6,05 a
Caldo CTC11 – 48 h	25,22	161,67 a	4,97 a	4,70 a
	100	163,15 a	4,94 a	4,68 a
	500	162,02 a	5,01 a	4,68 a
	1.000	160,35 a	5,02 a	4,65 a
	5.000	163,86 a	4,99 a	4,64 a
	10.000	162,92 a	5,04 a	4,69 a
Caldo CTC11 – 120 h	23,76	147,34 a	14,79 a	8,25 a
	100	147,17 a	15,05 a	8,16 a
	500	147,17 a	15,01 a	8,32 a
	1.000	147,70 a	15,07 a	8,12 a
	5.000	147,33 a	14,67 a	8,12 a
	10.000	147,44 a	15,09 a	8,18 a
Caldo IACSP955000 – 0 h	8,9	196,89 a	3,51 a	3,44 a
	100	196,70 a	3,53 a	3,44 a
	500	196,38 a	3,57 a	3,45 a
	1.000	197,12 a	3,58 a	3,45 a
	5.000	196,35 a	3,59 a	3,46 a
	10.000	196,66 a	3,59 a	3,45 a

Caldo IACSP955000 – 48 h	85,34	174,85 a	7,67 c	3,04 a
	100	174,98 a	7,63 c	3,04 a
	500	174,96 a	7,61 c	3,09 a
	1.000	175,02 a	7,61 c	3,08 a
	5.000	174,86 a	8,85 b	3,08 a
	10.000	175,13 a	9,61 a	3,06 a
Caldo IACSP955000 – 120 h	45,36	207,16 a	3,31 a	3,84 a
	100	207,05 a	3,23 a	3,83 a
	500	207,25 a	3,27 a	3,75 a
	1.000	207,55 a	3,27 a	3,87 a
	5.000	207,20 a	3,26 a	3,80 a
	10.000	206,13 a	3,27 a	3,87 a

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna, dentro de cada ensaio, não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%

Na Tabela 10 é possível observar as concentrações de sacarose, glicose e frutose de caldos de cana-de-açúcar dosados com diferentes concentrações de dextrana.

Em polarimetria e refratometria as dosagens crescentes de dextrana influenciaram as leituras causando erros no cálculo de pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor. No entanto, assim como para dosagens de amido, a cromatografia líquida ultra rápida não sofreu influência das doses crescentes de dextrana, confirmando sua maior precisão de resultados que podem minimizar custos para as usinas e destilarias.

Finalizando o estudo de caso proposto anteriormente, se o excedente pago ao fornecedor é de aproximadamente R\$ 65.350.000,00 por safra e o preço de um cromatógrafo líquido ultra rápido automatizado tem um valor de R\$ 250.000,00 então o laboratório de pagamento de cana-de-açúcar poderia adquirir aproximadamente 261 cromatógrafos por safra para minimizar os erros.

3.4. Conclusão

O aumento da concentração de dextrana e amido em caldo de cana-de-açúcar e em solução padrão de sacarose tem forte correlação com os desvios de leituras polarimétricas e menor correlação, em dosagens de amido, com as leituras refratométricas. Portanto, a presença dos interferentes favorece um pagamento errôneo de cana-de-açúcar ao fornecedor, aumentando o custo dessa matéria-prima para a indústria sucroenergética. Assim, a cromatografia líquida ultra rápida pode ser uma metodologia de análise que permitirá uma maior precisão dos dados independente da concentração de amido e dextrana presentes no

caldo de cana-de-açúcar, evitando os erros no pagamento de cana-de-açúcar e nos dados de Brix e Pol fornecidos para a indústria de processamento dessa matéria-prima.

3.5. Agradecimentos

À CAPES e ao CNPq pela concessão da bolsa. Aos companheiros de trabalho do Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados. À usina da região de Piracicaba pela doação da matéria-prima.

Referências

- ALVES, F.V.; AGUIAR, C.L.; SARMENTO, S.B.S. The effects of starch and dextran on technological analyses of sugarcane juice. **Sugar Journal**, v. 76, p. 14–31, 2013.
- ALVES, F.V. **Interferência do amido e da dextrana nas análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar**. 2012. 108 p. Dissertação (Mestre em Ciências), Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2012.
- AQUINO, F.W.B.; FRANCO, D.W. Dextranas em açúcares do estado de São Pulo. **Química Nova**, v. 31, n. 5, p. 1034–1037, 2008.
- AQUINO, D.S. **Produção de dextrana por novas linhagens de bactérias isoladas da cana-de-açúcar**. 2006. 91 p. Dissertação (Mestre em Engenharia Química), Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- BARBOSA, L.C. **Introdução a química orgânica**. São Paulo: Pretice Hall, 2004. 311 p.
- BATTA, S.K.; SINGH, R. Sucrose metabolism in sugar cane grown under varying climatic conditions: synthesis and storage of sucrose in relation to the activities of sucrose synthase, sucrose-phosphate synthase and invertase. **Phytochemistry**, v. 21, n. 11, p. 2431–2437, 1986.
- BAZITO, R.C. **Novos tensoativos derivados da 2-D- Glucosamina**. 2001. 185 p. Tese (Doutor em Química), Universidade de São Paulo, Instituto de Química, São Paulo, 2001.
- BOYES, B.P.N. Quantitative determinations of some non-sugars and partial removal of one in particular - Starch. **Proceedings of the South Africa Sugar Technology Association**, v. 32, p. 37–43, 1958.
- BRADBURY, G.A.; URQUHART, R.M.; CURTIN, J.H.; MCCOWAGE, R.J. The effect of dextran on raw sugar polarization. **Sugar Journal**, v. 48, n. 8, p. 11–13, 1986.
- BRAUNBECK, A.O.; OLIVEIRA, J.T.A. Mechanical aid for sugarcane harvesting. **Engenharia Agrícola**, p. 300–308, 2006.
- CLARKE, M.A.; EDYE, L.A.; COLE, F.; KITCHAR, J.L. Sugarcane factory trials with dextranase enzyme. **Sugar Journal**, v. 60, p. 20–22, 1997.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de Cana-de- açúcar**. v. 3, n. 3, 78 p., 2016.
- CONSECANA - CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Manual de Instruções**. 5 ed. Piracicaba: CONSECANA, 2006. 112 p.

- COPERSUCAR - COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Métodos analíticos. In: **COPERSUCAR. Manual de Controle Químico da Fabricação e Açúcar**. Piracicaba: Copersucar. 2001, p. 1-57.
- CORRADINI, E.; LOTTI, C.; MEDEIROS, E.S.; CARVALHO, A.J.F.; CURVELO, A.A.S.; MATTOSO, L.H.C. Estudo comparativo de amidos termoplásticos derivados do milho com diferentes teores de amilose. **Polímeros**, v. 15, p. 268–273, 2005.
- CUDDIHY, J.A.; PORRO, M.E.; RAUH, J.S. The presence of total polyssacharides in sugar production and methods for reducing their negative effects. **Journal American Society of Sugarcane Technologists**, v. 21, p. 73–91, 2001.
- DE LA ROSA, R. Las Dextranas: su efecto sobre la polarización de la sacarosa y la economía azucareira. **International Sugar Journal**, v. 100, n. 1119S, p. 103–106, 1998.
- DELGADO, A.A.; CESAR, M.A. A cana-de-açúcar como matéria-prima. In: **Tecnologia dos produtos agropecuários I**. Piracicaba: Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz"/USP, v. 2, 1977, 752 p.
- FAVERO, D.M.; HAMERSKI, F.; AQUINO, A.D. Starch and ICUMSA color removal in sugarcane juice clarified by carbonatation. **Acta Scientiarum**, v. 36, n. 4, p. 745-751, 2014.
- FIGUEIRA, J.A.; CARVALHO, P.H.; SATO, H.H. Sugarcane starch: quantitative determination and characterization. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 3, p. 806–815, 2011.
- GODSHALL, M.A.; LEGENDRE, B.L.; CLARKE, M.A.; MIRANDA, X.M.; BLANCO, R.S. Starch, polysaccharide and proanthocyanidin in Louisiana sugarcane varieties. **International Sugar Journal**, v. 98, p. 144–148, 1996.
- GUGLIELMONE, C.D.; DIEZ, O.; CARDENAS, G.; OLIVER, G. Sucrose utilization and dextran production by *Leuconostoc mesenteroides* isolated from the sugar industry. **Sugar Journal**, v. 62, p. 36–40, 2000.
- ICUMSA METHODS BOOK. Appendix 1. table A - **Density values of pure sucrose solutions at 20 °C**. 2005.
- KAMPEN, W.H.; TAN, Q.; CUDDIHY, J.A. The action of alpha amylase on sugar cane starch. **Proceedings of the American Society of Sugar Cane Technologists**, p. 17–19, 1998.
- KAMPEN, W.H. The action of alpha-amylase on sugarcane starch. In: **American society of sugar cane technologists**, 2006.

- LEME FILHO, J.R.A. **Estudo comparativo dos métodos de determinação e de estimativa dos teores de fibra e de açúcares redutores em cana-de-açúcar (*Saccharum spp.*)**. 2006. 151 p. Dissertação (Mestre em Ciências), Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 2006.
- LINDEN, J.C.; LAWHEAD, C.L. Liquid chromatography of saccharides. **Journal of Chromatography A**, v. 105, n. 1, p. 125–133, 1975.
- NICHOLSON, R.I; HORSLEY, M. Determination of dextran and starch in cane juices and sugar products. **Agricultural and Food Chemistry**, v. 7, n. 9, p. 640–643, 1959.
- NORONHA, R.H.F.; SILVA, R.P.; CHIODEROLI, A.A.; SANTOS, E.P.; CASSIA, M.T. Controle estatístico aplicado ao processo de colheita mecanizada diurna e noturna de cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 70, n. 4, p. 931–938, 2011.
- PARK, Y.K.; MARTENS, I.S.H.; SATO, H.H. Enzymatic removal of starch from sugarcane juice during sugarcane processing. **Process Biochemistry**, v. 20, n. 2, p. 57–59, 1985.
- PIAZZA, R.D. **Modificação da superfície de óxidos de ferro por dextrana derivatizada para aplicações em liberação de fármaco**. 2014. 101 p. Dissertação (Mestre em Química), Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho", Instituto de Química, Araraquara, 2014.
- ROBERTS, E.J.; GODSHALL, M.A.; CARPENTER, F.G.; CLARKE, M. A. Composition of soluble indigenous polysaccharides from sugar cane. **International Sugar Journal**, v. 78, p. 163–165, 1976.
- ROBERTS, E.J. A quantitative method for dextran analysis. **International Sugar Journal**, v. 85, n. 1009, p. 10–13, 1983.
- SHALLENBERGER, R.S.; BIRCH, G.G. Sugar chemistry. p. 169–193, 1975.
- SHIMADZU APPLICATION NEWS. n. **L294**. 2015.
- SINGH, N.; SINGH, J.; KAUR, L.; SODHI, N.S.; GILL, B.S. Morphological, thermal and rheological properties of starches from different botanical sources. **Food Chemistry**, v. 81, n. 2, p. 219–231, 2003.
- SOUZA SILVA, A.F.; DA CRUZ, S.H. Brazilian sugar in domestic retail: The quality of sugar consumed in the state of São Paulo. **Natural Science**, v. 8, p. 160–169, 2016.
- STEVENSON, J.C.; WHAYMAN, E. Cane starch. Part I. Isolation and iodine affinity. **International Sugar Journal**, v. 78, p. 44–46, 1976.
- TESTER, R.F.; KARKALAS, J.; QI, X. Starch—composition, fine structure and architecture. **Journal of Cereal Science**, v. 39, n. 2, p. 151–165, 2004.

- TROST, L.W.; STELLE, F.M. Control of microbiological losses prior to cane delivery and during sugar process. **International Sugar Journal**, v. 104, n. 1239, p. 118–123, 2002.
- YATES, R. Factors that affect the quality of sugarcane-part II: management practices. **Internacional Sugar Journal**, v. 98, n. 1171, p. 362–366, 1996.
- ZOZZI, S.B; CÁRDENAS, G.J.; SOROL, N.; SASTRE, M.Y. Influencia de compuestos azúcares y no azúcares en la calidad industrial de caña de azúcar en Tucumán (R. Argentina). Parte I: caña limpia y despuntada. **Revista Industrial y Agrícola de Tucumán**, v. 87, n. 1, p. 15–27, 2010.
- ZUZZA, E.P. **Determinação sacarimétrica de caldos e melaços provenientes da cana-de-açúcar sem adição de calrificantes químicos**. 2015. 94 p. Dissertação (Mestre em Química), Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, 2015.

4. FATORES INTERFERENTES NA QUALIDADE DE CANA-DE-AÇÚCAR

Resumo

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância para o Brasil. Destaca-se em área cultivada e plantada no estado de São Paulo por sua robustez, produtividade, retorno econômico e grande concentração de usinas e destilarias. Sua qualidade impacta o processo de produção de açúcar e etanol e a economia do setor. Alguns parâmetros são analisados no recebimento da matéria-prima para determinar a qualidade da cana-de-açúcar, sendo eles Pol%cana, Brix%cana e Fibra. A metodologia empregada é regida pelo CONSECANA, que também determina o pagamento de cana-de-açúcar ao fornecedor. Diversos fatores influenciam na qualidade dessa matéria-prima, destacando a variedade plantada, tipo de solo, manejo empregado, tipo de colheita, tempo entre colheita e processamento, fatores climáticos, ataque de pragas e doenças. Assim, o objetivo foi avaliar duas variedades de cana quanto a sua maturação e parâmetros de qualidade associando ao tempo entre o corte e o processamento. Observa-se que ao longo do período de estudo as variedades concentraram sacarose, com valores máximos próximo a colheita. Ainda, em relação ao tempo entre colheita e processamento dentro de cada mês de estudo não foi possível visualizar quedas expressivas de ATR, onde uma possível justificativa seria das características climáticas, como temperaturas e umidades, que não incentivaram a perda de água dessa matéria-prima. Outros parâmetros analisados foram concentrações de amido e dextrana no caldo e contagem de bactérias e bolores que permitiram observar a influência da colheita mecanizada nos parâmetros de qualidade.

Palavras-chave: Cana-de-açúcar; Qualidade; Amido; Dextrana; Colheita mecanizada

Abstract

Sugarcane is a crop of great importance for Brazil. It stands out in cultivated and planted area in the state of São Paulo for its robustness, productivity, economic return and great concentration of sugar mills and distilleries. Its quality impacts the sugar and ethanol production process and the sector's economy. Some parameters are analyzed in the reception of the raw material to determine the quality of the sugarcane, being Pol% cana, Brix% cana and Fibra. The methodology used is governed by CONSECANA, which also determines the payment of sugarcane to the supplier. Several factors influence the quality of this raw material, highlighting the variety planted, soil type, management used, type of harvest, time between harvest and processing, climatic factors, pest and disease attack. Thus, the objective was to evaluate two sugarcane varieties in terms of maturation and quality parameters associated with the time between cutting and processing. It is observed that throughout the study period the

varieties concentrated sucrose, with maximum values near the harvest. Still, in relation to harvest and processing within each month of study, it was not possible to visualize significant drops of ATR, where a possible justification would be the climatic characteristics, such as temperatures and humidity, which did not encourage the loss of water from this raw material. Other parameters analyzed were starch and dextran concentrations in the sugarcane juice and counts of bacteria and fungi that allowed to observe the influence of the mechanized harvest on the quality parameters

Keywords: Sugarcane; Quality; Starch; Dextran; Mechanized harvest

4.1. Introdução

A cana-de-açúcar é uma cultura de grande importância para o Brasil. Com uma área cultivada de aproximadamente 9 milhões de hectares e uma produção estimada de 684,77 milhões de toneladas na safra 2016/17, o Brasil se destaca como maior produtor mundial, seguido de Índia e China (CONAB, 2016).

Essa é a principal matéria-prima para produção de açúcar e etanol no Brasil. E a qualidade dos produtos finais estão diretamente relacionados com a qualidade da cana-de-açúcar. Sua qualidade é altamente influenciada pela escolha da variedade, ambiente de produção, fatores climáticos, manejo empregado, colheita, carregamento/transbordo e transporte (WIEDENFELD, 2000; RIPOLI; RIPOLI, 2004; NETO et al., 2006; TASSO-JÚNIOR et al., 2007)

A exposição dessa matéria-prima no campo, ou seja, do seu plantio à colheita, compreende um período de 1 ano a 1 ano e meio. Dessa forma essa cultura fica vulnerável a intemperes climáticas, ao manejo empregado, ao tipo de colheita, doenças, pragas, ações criminosas, entre outras (BEZERRA; CANTALICE, 2006). Esses fatores interferem na qualidade da cana-de-açúcar e do produto final.

Esse período de exposição visa a máxima maturação das variedades, ou seja, maior concentração de sacarose no colmo (ROSSETTO, 2006). Assim, levantamentos em campo são realizados para acompanhar o período de maturação, onde a metodologia empregada no estado de São Paulo é regida pelo Consecana (Conselho dos produtores de cana-de-açúcar, açúcar e álcool do estado de São Paulo) e conhecida como análises tecnológicas do caldo de cana-de-açúcar.

Na detecção do ponto máximo de maturação a variedade será colhida e encaminhada para processamento industrial. Cada variedade atinge seu ponto máximo de maturação em períodos diferentes da safra e recebem classificações de precose, médias e tardias, ou seja,

máxima maturação no início, meio e final de safra, respectivamente (MAULE; MAZZA; MARTHA JR., 2001). Assim, cada variedade tem suas características intrínsecas, que herdam de outras variedades por melhoramento genético. Portanto, a qualidade da matéria-prima está relacionada também com fatores genéticos.

Cada variedade tem um ambiente de produção ideal. Esses ambientes classificados como A, B, C, D e E tendem dos mais argilosos (A) aos mais arenosos (E) e a classificação depende de diversos fatores climáticos e disponibilidade de água no solo (PRADO et al., 2003). Conhecendo o ambiente, o manejo é executado objetivando a máxima produtividade da variedade adaptada a ele. Qualquer deficiência de nutriente no solo altera a qualidade da cana-de-açúcar (DIAS, 1997). Estudos de dosagens de nitrogênio aplicado em cana soca mostram um aumento da produtividade em relação as áreas não adubadas (VITTI et al., 2007).

Outro fator que interfere na qualidade da cana-de-açúcar é o tipo de colheita empregado. Com a promulgação da Lei 11.241, de 19 de setembro de 2002 regulamentada pela Lei Estadual 47.700, de 11 de março de 2003, a queima de cana-de-açúcar em áreas mecanizáveis foi minimizada até o ano de 2014, ano esse que passou a ser proibido o emprego da queima. Portanto, intensificou-se a colheita mecanizada e com ela algumas dificuldades passaram a ser observadas pela indústria de processamento, como o aumento da concentração de dextrana e amido presentes no caldo de cana-de-açúcar (ALVES; AGUIAR; SARMENTO, 2013). Esses polissacarídeos na indústria reduzem a taxa de filtrabilidade, aumentam a viscosidade do caldo, atrasam o crescimento e distorcem os cristais de açúcar (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2001). A presença de amido no caldo está relacionado a maior porcentagem de entrada de impurezas vegetais, enquanto que a presença de dextrana está relacionada com a entrada de impurezas minerais no processo. Além das problemáticas na indústria esses polissacarídeos super-estimam leituras polarimétricas e refratométricas e os cálculos do Consecana, que levam em consideração esses valores, são influenciados gerando erros nos valores de Pol%cana, Brix e ATR. Essas informações errôneas são transmitidas para a indústria de processamento e o pagamento de cana-de-açúcar torna-se errôneo ao fornecedor.

Pragas e doenças são fatores que causam danos irreversíveis a cana-de-açúcar, onde em infestações elevadas causam sérios danos econômicos a cultura (DINARDO-MIRANDA; GARCIA; PARAZZI, 2002). A principal praga é a broca da cana-de-açúcar que abrem galerias nos colmos, consumindo a parte interna do entre nó e reduzindo a quantidade de sacarose da matéria-prima. Outras brocas de impacto econômico na cultura é a cigarrinha das raízes com incidência em áreas de colheita mecanizadas (SOUZA et al., 2005). Fungos

oportunistas, como o *Fusarium moniliformes*, encontram nas galerias um local ideal para seu desenvolvimento produzindo compostos que agregam cor ao caldo (PANNUTI et al., 2013).

Fatores climáticos, talvez sejam os que causam maior impacto na qualidade da cana-de-açúcar (DIAS et al., 1999). A cana-de-açúcar no Brasil é cultivada em solos bastante secos, destacando a região nordeste, onde a falta de chuva prejudica o crescimento vegetal, assim é importante a irrigação com vinhaça ou por sistemas de irrigação (DALRI et al., 2008). Geadas são bastante preocupantes no setor sucro-energético. Sendo uma cultura onde a temperatura base é de 18 °C, temperaturas menores que essas por um tempo prolongado podem causar danos as gemas e folhas novas, induzem o florescimento de algumas variedades, como forma de sobrevivência da espécie, e causar morte de gema apical (BASTOS et al., 1983; PARANHOS, 1987). Ventos fortes podem causar tombamentos da matéria-prima e esse contato do colmo com o solo pode aumentar a quantidade de micro-organismos no caldo como a bactéria *Leuconostoc* spp. produtora de dextrana (CARLIN, 2005).

A qualidade da matéria-prima afeta a produção de açúcar em quantidade de toneladas produzida, aumento de cor, agregação de amido, dextrana e sulfito aos cristais de açúcares e ainda eleva o custo de produção (LAVANHOLI, 2010).

Sendo a qualidade da cana-de-açúcar essencial para a geração de um produto final de alta qualidade e de grande importância na redução de custo de produção, o objetivo foi acompanhar a maturação de duas variedades de cana-de-açúcar realizando análises tecnológicas dos caldos, verificando a interferência da qualidade da matéria-prima no preço pago ao fornecedor, analisando concentrações de amido e dextrana e verificando a contaminação por micro-organismos.

4.2. Material e Métodos

As variedades de cana-de-açúcar utilizadas foram CTC11 e IACSP955000 doadas por uma indústria sucro-energética da região de Piracicaba. Ambas, foram plantadas em ambiente de produção “A”, em solos classificados como Latossolo Vermelho Eutrófico e o ciclo de produção escolhido foi a primeira soca. O período de colheita compreendeu de maio a setembro, objetivando o acompanhamento da maturação das variedades. Três feixes de 10 colmos, de cada variedade para cada tempo colheita e processamento, foram colhidos e picados, semelhante os cortes realizados pela colhedora.

O processamento ocorreu imediatamente (0 h), 24 h, 48 h, 72 h, 96 h e 120 h após a colheita, simulando o tempo entre colheita e processamento. Para cada variedade e repetição biológica foram realizadas três pesagens de 500 g de cana-de-açúcar desfibrada para extração do caldo por prensa hidráulica com 250 kgf.cm^{-2} por um minuto. O bolo úmido foi pesado para determinação do teor de fibra. O caldo foi filtrado em algodão.

As análises foram realizadas no Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados, do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” (ESALQ) pertencente à Universidade de São Paulo (USP), município de Piracicaba-SP.

4.2.1. Análises tecnológicas de caldo de cana-de-açúcar

Os caldos de cana-de-açúcar foram submetidos as análises tecnológicas de determinação de qualidade de matéria-prima, segundo o Consecana (2006).

4.2.1.1. Fibra%cana

Calculado segundo a norma N-082 (ABNT 16251 NBR 2013), pela equação (1):

$$F = 0,08 \times \text{PBU} + 0,876 \quad (1)$$

Onde,

F: Fibra%cana

PBU: Peso do bolo úmido

4.2.1.2. Brix%caldo (porcentagem em massa de sólidos solúveis)

Medição em refratômetro Bellingham + Stanley Ltd., modelo RFM 712 refractometer com correção automática de temperatura a 20 °C.

4.2.1.3. Pol%caldo (porcentagem em massa de sacarose aparente)

Medição em polarímetro modelo ADS 420 saccharimeter, Bellingham + Stanley Ltd., utilizando como clarificante uma mistura a base de alumínio, a leitura sacarimétrica foi transformada para leitura equivalente em subacetato de chumbo (Equação 2):

$$\text{LPb} = 1,00621 \times \text{LAl} + 0,05117 \quad (2)$$

Onde,

LPb: Leitura sacarimétrica a base de subacetato de chumbo e

LAl: Leitura sacarimétrica obtida com a mistura clarificante a base de alumínio.

A Pol foi calculada a partir da equação 3.

$$\text{Pol\%caldo} = \text{LPb} \times (0,2605 - 0,0009882 \times \text{Brix}) \quad (3)$$

4.2.1.4. Pureza (Q)

Cálculo segundo equação 4.

$$Q = (\text{Pol\%caldo} / \text{Brix\%caldo}) \times 100 \quad (4)$$

4.2.1.5. Pol%cana

Calculada pela equação 5.

$$\text{Pol\%cana} = \text{Pol\%caldo} \times (1 - 0,01 \times F) \times C \quad (5)$$

Onde,

F = Fibra da cana;

C = Coeficiente utilizado para transformação da pol do caldo, extraído pela prensa, em pol da cana, segundo a equação 6.

$$C = 1,0313 - 0,00575 \times F \quad (6)$$

4.2.1.6. AR%caldo (açúcares redutores do caldo)

Calculado pela equação 7.

$$\text{AR\%caldo} = 3,641 - 0,0343 \times Q \quad (7)$$

Onde,

Q: Pureza aparente do caldo.

4.2.1.7. ARC% (açúcares redutores da cana)

Calculado pela equação 8.

$$\text{ARC} = \text{AR\%caldo} \times (1 - 0,01 \times F) \times C \quad (8)$$

Onde,

F: Fibra da cana;

C: Coeficiente.

4.2.1.8. ATR (Açúcar total recuperado)

Conhecendo-se a pol da cana e os açúcares redutores da cana (ARC), o ATR foi calculado pela equação 9.

$$\text{ATR} = 10 \times \text{PC} \times 1,05263 \times 0,905 + 10 \times \text{ARC} \times 0,905 \quad (9)$$

Onde,

10 x PC: Pol por tonelada de cana;

1,05263: Coeficiente estequiométrico para a conversão da sacarose em açúcares redutores;

0,905: Coeficiente de recuperação, para uma perda industrial de 9,5%;

10 x ARC: Açúcares redutores por tonelada de cana.

4.2.2. Quantificação de amido

Para determinar o amido de caldo de cana-de-açúcar foi utilizado o método Copersucar (2001). Foram pesados, em quatro balões volumétricos, 3,6 g caldo de cana-de-açúcar, onde o balão 1 foi considerado o branco e as demais amostras. A esses balões foram adicionados 15 mL de solução de cloreto de cálcio 40% (m/m), corrigido para pH 3,0 com solução de ácido acético 0,030 mol.L⁻¹, e em banho de água em ebulição permaneceram por 15 minutos, com a finalidade de solubilizar todo o amido presente na amostra. Após o banho, os balões foram resfriados em água corrente até temperatura ambiente. Ao atingir temperatura ambiente, foram adicionados 15 mL de solução de ácido acético 0,030 mol.L⁻¹ em todos os balões e 10 mL de solução de iodeto/iodato de potássio (solução preparada no momento do uso com 10 mL de iodeto de potássio 10% (m/v), 90 mL de água ultrapura e 100 mL de iodato de potássio 0,0017 mol.L⁻¹), exceto no branco. Essa solução permitiu a complexação amido-iodo. Após homogeneização foi aguardado 10 minutos para realização das leituras de absorbância em espectrofotômetro marca Shimadzu modelo UV-Mini 1240 a 700 nm.

A concentração de amido presente em caldo de cana-de-açúcar foi determinada a partir da relação da absorbância com a concentração em uma curva de calibração que variou de 0 a 500 mg.L⁻¹.

4.2.3. Quantificação de dextrana

A determinação foi realizada pela metodologia proposta por Roberts (1983). Onde, à 10 mL caldo de cana-de-açúcar foi adicionado 0,35 g de terra diatomácea e 1 mL de solução de ácido tricloroacético 10%. Após homogeneização por 5 minutos, 40 mL de etanol absoluto foi adicionado para precipitação do polissacarídeo; foi aguardado 5 minutos. Após esse período foi realizada a filtração a vácuo em funil Buchner. Foi procedida, cinco vezes consecutivas, a lavagem do retido com 10 mL de solução de etanol 80%, para retirar todo o açúcar que possa interferir na análise. Todo o conteúdo retido no filtro foi transferido para

balão de 25 mL, o volume foi ajustado com água destilada e foi realizada a filtração em papel filtro de 110 mm, objetivando a coleta do filtrado.

Em tubo para centrifugação foi adicionado 2 mL de solução de hidróxido de sódio $2,5 \text{ mol.L}^{-1}$, 10 mL do filtrado e 2 mL de reagente Cooper (reagente esse preparado no momento do uso com 50 mL de água destilada, 50 mL de uma solução sulfato de cobre penta hidratado com citrato de sódio e 12,5 g de sulfato de sódio anidro). Essa suspensão foi colocada em banho de água em ebulição por 5 minutos, com a finalidade de precipitar do complexo dextrana-cooper. Após esse período, foi aguardado o resfriamento a temperatura ambiente e procedido a centrifugação a 5000 g por 30 minutos, permitindo compactar o sedimento. O sobrenadante foi descartado e 10 mL de solução lavagem (preparado com 50 mL de água destilada, 10 mL de reagente Cooper e 10 mL de solução de hidróxido de sódio $2,5 \text{ mol.L}^{-1}$) foi adicionada para suspender os sedimentos. Uma nova centrifugação foi realizada nas mesmas condições da anterior. O sobrenadante foi descartado e os tubos virados de cabeça para baixo, por 5 minutos, em papel absorvente para retirar o excesso de solução lavagem. Foi adicionado 2 mL de solução de ácido sulfúrico 1 mol.L^{-1} ao tubo e transferido quantitativamente para balão de 10 mL. Uma nova alíquota de 2 mL foi adicionado ao tubo e novamente transferido para o mesmo balão. O volume foi ajustado com água destilada.

Para realização do teste Fenol-Ácido Sulfúrico, 2 mL da solução do balão foi adicionado ao tubo de ensaio, para o branco adicionou-se 2 mL de água destilada. Foi pipetado 1 mL de solução fenol 5% e com dispensador, rapidamente, foi adicionado 10 mL de ácido sulfúrico concentrado, com isso o ácido se misturou completamente com a solução aquosa promovendo o máximo de calor. Os tubos foram colocados em banho de água em ebulição por 2 minutos para o desenvolvimento completo de cor. Foi aguardado o resfriamento a temperatura ambiente e procedido a leitura de absorbâncias em espectrofotômetro marca Shimadzu modelo UV-Mini 1240 em comprimento de onda 485 nm.

As concentrações foram determinadas a partir de uma curva de calibração, onde as concentrações de dextrana variaram de 0,01 a $0,10 \text{ mg.mL}^{-1}$.

4.2.4. Análise microbiológica

4.2.4.1. Contagem de bactérias totais

Para a realização da análise foi importante a esterilização dos materiais e do ambiente de preparo. Assim, as placas de material descartáveis, pipetas, fluxo laminar, canetas, suportes para tubo de ensaio, tesoura e a própria sala foram esterilizados com luz UV

por aproximadamente 30 minutos e previamente desinfetados com álcool 70%. Os demais materiais foram esterilizados em auto clave por 15 minutos a 1 atm de pressão e temperatura de 105 °C.

A técnica utilizada foi a “pour-plate”, onde testes de diluições nas concentrações 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} e 10^{-6} , foram realizados para obter a melhor diluição para o estudo. Para se obter a diluição 10^{-1} foi homogeneizado, em tubo de ensaio, 1 mL da amostra de caldo de cana-de-açúcar em 9 mL de solução salina 0,85% de cloreto de sódio. Dessa diluição foi pipetado 1 mL em um novo tubo de ensaio contendo 9 mL de solução salina, obtendo a diluição 10^{-2} . Para as demais diluições o processo se repetiu até obtenção da diluição 10^{-6} .

Após os testes de diluições, e em triplicata, as placas de petri foram nomeadas e a elas espalhado 1 mL de cada solução diluída escolhida, obtendo a melhor distribuição. À aliquota espalhada, foi vertido 15 mL de meio Plate Count Ágar (PCA) (Liofilchem Laboratory, Itália) resfriado, em cada uma das placas. O meio foi preparado conforme instruções do fabricante, ou seja, 23,5 g de PCA para cada litro de meio líquido preparado. A homogeneização do inóculo foi realizada em superfície plana com 15 movimentos na forma de oito em sentido horário e outros 15 movimentos no sentido anti-horário. A incubação foi a 35 °C por 48 h e os resultados descritos através da média do somatório da contagem das três placas e expressos em UFC bactérias.mL⁻¹ de amostra ou UFC.mL⁻¹.

4.2.4.2. Contagem de bolores e leveduras

Assim como para bactérias, nas mesmas condições, os materiais e a sala de preparo foram esterilizados. Os testes de diluições foram realizados e também seguiu o realizado para as bactérias.

A técnica empregada foi a “pour-plate”, no entanto o meio utilizado foi o Batata Dextrose Ágar (BDA) (Liofilchem Laboratory, Itália), preparado conforme orientação do fabricante, ou seja, 42 g de BDA para cada litro de meio líquido. Esse meio foi acidificado, adicionando 1 mL de solução de ácido tartárico 10% (m/v) (LABSYNTH, Brasil) a cada 100 mL de meio, inibindo assim o crescimento bacteriano.

O procedimento de inoculação das amostras, em triplicata, foi o mesmo empregado para bactérias. Após a solidificação do meio, as placas foram incubas a 30 °C durante 72 horas e os resultados descritos através da média do somatório da contagem das três placas e expressos em UFC de bolores e leveduras.mL⁻¹.

4.3. Resultados e discussão

4.3.1. Estudo de maturação das variedades de cana-de-açúcar CTC11 e IACSP955000

No estudo de qualidade de cana-de-açúcar o principal parâmetro de interesse das usinas e destilarias é a quantidade de ATR da variedade no momento do corte. Esse interesse é pertinente na medida que maiores valores de ATR estão relacionado a maiores valores de Pol%cana e menores valores de ARC (VIANA et al., 2008). A Figura 10 apresenta a curva de maturação em quilos por tonelada de cana-de-açúcar das variedades CTC11 e IACSP955000. Variedades essas que permitiram a condução desse trabalho por todo o período de estudo, uma vez que são classificadas como variedades médias a tardias, ou seja, com pico de maturação em final de safra (CTC, 2013; IAC, 2012).

As características varietais influenciaram bastante a qualidade da matéria-prima, como por exemplo o teor de sacarose, uma vez que ambas foram plantadas em seus ambientes de produção ideal (A/B), estão localizadas em talhões próximos, foram submetidas aos mesmos manejos e colhidas na mesma época.

Essas são variedades ditas concorrentes, pela época ideal de colheita, longevidade, ambiente de produção, teor de sacarose e baixo índice de tombamento, no entanto foi observado que ao longo do período de maturação a variedade IACSP955000 mostrou-se mais rica em sacarose com uma diferença aproximada de ATR de 20 kg.t⁻¹.

Figura 10. Curva de maturação, da safra 2016/17, das variedades CTC11 e IACSP955000 em kg de ATR por tonelada de cana-de-açúcar.

Fenotipicamente, a variedade IACSP955000 apresenta colmos com diâmetros maiores em relação a CTC11, maior altura de plantas e alto perfilhamento (IAC, 2012), o que permite um armazenamento de sacarose maior (BASTOS et al., 2003). Esses fatores explicam um ATR maior da variedade IACSP955000 em relação a CTC11.

A mesma tendência da curva de maturação de ATR foi observada nos valores de Pol%cana e o contrário para ARC (açúcares redutores da cana) uma vez que esses valores são utilizados no cálculo de ATR segundo manual do Consecana. A Figura 11 ilustra esses valores.

Figura 11. Pol%cana e ARC ao longo do período de maturação.

O parâmetro Pol%cana é a quantidade de sacarose em massa presente na matéria-prima (CONSECANA, 2006). A Figura 11 mostra um aumento da concentração de sacarose em relação ao período de maturação até o momento de sua colheita, o que é esperado e amplamente discutido por diversos autores quanto a qualidade de matéria-prima (SACHS, 2007; MARQUES; SILVA, 2008). A variedade IACSP955000 apresentou maiores valores de Pol%cana em relação a variedade CTC11 isso devido a características intrínsecas a planta, uma vez que o ambiente de produção e os tratos de ambas variedades eram iguais.

Analisando as Figuras 10 e 11 é possível visualizar que no mês de setembro houve uma queda de ATR e Pol%cana na variedade IACSP955000 em relação ao mês de agosto e, portanto, sua colheita, objetivando maior concentração de sacarose, deveria acontecer no mês de agosto. Em orientações fornecidas pelo IAC, o período ideal de colheita compreende a segunda quinzena de agosto até outubro ausentando a necessidade de maturador (IAC, 2012).

A variedade CTC11 apresenta maiores valores de ARC e menores valores de Pol%cana e ATR em relação a variedade IACSP955000. No entanto, sua curva de maturação permite observar que colheitas de final de safra beneficiam essa variedade objetivando a máxima concentração de sacarose, podendo sub-entender que colheitas programadas para o mês de outubro e primeira quinzena de novembro colocariam maiores concentrações de sacarose na indústria (CTC, 2013).

4.3.2. Quantificação de amido e dextrana

Análises de concentrações de amido e de dextrana foram realizadas ao longo do período de maturação. A Tabela 11 apresenta os valores das concentrações desses polissacarídeos ao longo do período de maturação.

Tabela 11. Concentrações de amido e dextrana das variedades de cana-de-açúcar CTC11 e IACSP955000 ao longo do período de maturação.

Meses	Amido		Dextrana	
	mg.L ⁻¹			
	CTC11	IACSP955000	CTC11	IACSP955000
Maio	341,00 c	354,00 c	0,00 b	0,00 c
Junho	390,00 b	125,00 d	0,00 b	0,00 c
Julho	260,00 d	640,00 b	0,00 b	0,00 c
Agosto	720,00 a	920,00 a	0,00 b	25,00 a
Setembro	390,00 b	133,34 d	8,99 a	8,19 b

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%.

As variações das concentrações de amido ao longo do período de maturação para ambas variedades são mostradas na Tabela 11. Não existe uma tendência de aumento desse polissacarídeo na medida que a planta ganha maturação e isso se deve a fatores intrínsecos as própria variedade, período do dia que acontece a colheita, tipo de colheita empregada, entre outros (GIMENEZ; FRANZÉ; MADALENO, 2016). Para minimizar a entrada de amido no processo é importante um bom manejo da variedade, buscando homogeneidade de canavial e bom desponte e despalha da cultura no momento da colheita (PÚGLIA, 2006).

Concentrações de dextrana somente passaram a ser observadas próximos a valores máximo de concentração de sacarose. A presença de *Leuconostoc* spp., bactéria que converte a sacarose em dextrana, associa-se a pontos máximos de maturação das variedades (CUDDIHY; PORRO; RAUH, 2001). Assim cana-de-açúcar próximo ao período de colheita apresentaram maiores concentrações de dextrana no processo. Para minimizar a entrada desse polissacarídeo no processo, deve-se carregar menor quantidade de impurezas minerais na colheita e também evitar colheitas após chuvas intensas.

A Tabela 12 apresenta a contagem de bactérias totais e de bolores e leveduras ao longo do período de maturação.

A presença de micro-organismos no caldo de cana-de-açúcar está relacionado a entrada de impureza mineral, portanto esse fator também é variável em relação a clima, tipo de colheita, tombamento da matéria-prima, pragas, entre outros.

Tabela 12. Unidade formadora de colônia de bactéria totais e bolores e leveduras em relação ao período de maturação.

Meses	Bactérias totais		Bolores e Leveduras	
	UFC.mL ⁻¹			
	CTC11	IACSP955000	CTC11	IACSP955000
Maio	7,4x10 ⁵ e	1,83x10 ⁶ d	4,6x10 ⁴ c	8,76x10 ⁵ a
Junho	9,35x10 ⁶ a	9,56x10 ⁷ a	3,9x10 ⁴ d	9,7x10 ⁴ d
Julho	5,25x10 ⁶ b	5,7x10 ⁵ e	5,6x10 ⁴ b	5,2x10 ⁴ e
Agosto	4,85x10 ⁶ c	33,8x10 ⁶ b	6,45x10 ⁴ a	12,4x10 ⁴ b
Setembro	4,55x10 ⁶ d	9,3x10 ⁶ c	1,19x10 ⁴ e	10,35x10 ⁴ c

Nota: Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey em nível de 1%.

Relacionando a concentração de dextrana encontrada no caldo com a contaminação por bactérias é possível observar, principalmente para a variedade IACSP955000 que os meses de agosto e setembro apresentaram elevadas colônias de bactérias, acompanhando a tendência de concentração de dextrana. Portanto é possível afirmar que entre as bactérias houve um provável aumento da *Leuconostoc* spp. Para o mês de junho nessa mesma variedade também foi encontrada alta quantidade de bactérias, no entanto não foi detectado presença de dextrana no caldo, sendo assim, uma menor quantidade da *Leuconostoc* spp. poderia estar presente.

Observando a variedade CTC11 não houve uma correlação entre concentração de dextrana e aumento de contagem de bactérias, dessa forma mesmo com contagens menores no mês de setembro houve a presença da *Leuconostoc* spp. em quantidades que fosse possível visualizar concentração de dextrana pela análise.

Analisando bolores e leveduras, não foi visualizado aumento no número de colônias em relação ao período de maturação da variedade. A quantidade de bolores está relacionada a clima, possibilidade de tombamento da cana-de-açúcar, e até mesmo a presença do complexo broca-podridão (DINARDO-MIRANDA; GARCIA; PARAZZI, 2002).

4.3.3. Estudo de tempo entre colheita e processamento

O estudo de tempo entre colheita e processamento foi realizado mensalmente durante um período que compreendeu maio a setembro. Desta forma, foi possível avaliar a maturação e influências de alguns fatores na qualidade da matéria-prima.

A Figura 12 destaca a quantidade de Pol%cana, ARC e ATR das variedades CTC11 e IACSP955000.

Figura 12. Influência do tempo entre colheita e processamento na Pol%cana, ARC e ATR das variedades CTC11 e IACSP955000 ao longo do período de maturação.

Observa-se pela Figura 12 que independente do mês de colheita da cana-de-açúcar a variedade IACSP955000 apresentou maiores valores de Pol%cana e portanto maiores teores de sacarose em relação a variedade CTC11. A mesma tendência foi observada para açúcares redutores na cana (ARC) onde a variedade IACSP955000 apresentou menores teores em relação a variedade CTC11. Como os cálculos de ATR, segundo o manual do Consecana, levam em consideração valores de Pol%cana e ARC então o comportamento é similar a Pol%cana.

Diversos autores destacam a diminuição da concentração de sacarose em cana-de-açúcar em relação ao tempo entre colheita e processamento. Esse fator é bastante importante, pois após a colheita dessa matéria-prima o processo de respiração continua, perdendo água por evaporação e por exsudação. Essa perda de água, carrega a sacarose diminuindo a quantidade que será cristalizada (IANNONI; MORABITO, 2002; GONÇALVES et al., 2015). Ainda, a exposição dessa matéria-prima sem processamento permite a proliferação de micro-organismos que convertem açúcares em dextrana e levana, por exemplo, produtos esses que interferem na qualidade do processo e reduzem a qualidade do açúcar e do etanol produzidos. O Consecana penaliza os fornecedores que entregam a cana-de-açúcar na indústria após 72 horas da colheita no período que compreende o início da moagem até o mês de agosto, e 60 horas a partir de setembro até a finalização da safra. Obriga-se a entrega de uma matéria-prima de maior qualidade e o fornecedor é beneficiado por uma melhor remuneração pela cana-de-açúcar entregue.

Dentro de cada mês estudado foi realizada análises tecnológicas de cana-de-açúcar em diferentes tempos de pátio. O que pode ser observado é que quantidade de Pol%cana de ambas variedades não decresceram em relação ao aumento do tempo entre colheita e processamento. Em alguns meses foi possível observar um incremento na Pol%cana em tempos de pátios mais longos, como no mês de maio em 96 e 120 horas após a colheita. No entanto, a variação em relação a 0 h após a colheita não foi alta, mantendo-se praticamente constante em Pol%cana. Essa contradição é justificada por uma matéria-prima ainda imatura e um canavial muito heterogêneo em tamanho de plantas e possíveis diferenças nos feixes de amostras biológicas. Outra justificativa é o frio intenso ocorrido nos meses de colheita influenciando na concentração de sacarose; isso pode ser visualizado no comportamento das duas variedades estudadas. A Tabela 13 apresenta os dados climáticos dos meses de colheita dentro dos períodos de tempo entre colheita e processamento.

Analizando os dados climáticos, somente no mês de maio ocorreram chuvas durante o período de tempo entre a colheita e o processamento. A média para o período foi de 19,61 mm, totalizando 117,7 mm na semana. A temperatura mínima foi de 12 °C, valor bastante baixo, que provavelmente minimizou a perda de água por evaporação.

Tabela 13. Dados climáticos de temperaturas, umidades e precipitações dos meses de maio a setembro compreendendo o período de tempo entre colheita e processamento.

Data	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Temperatura Média	Umidade Relativa Máxima	Umidade Relativa Mínima	Umidade Relativa Média	Chuva
	(oC)			(%)			
30/05/2016	17,7	12,1	15,1	99,5	92,9	98,4	31,3
31/05/2016	25,8	15,7	19,6	99,5	59,4	87,2	4,0
1/6/2016	26,6	16,5	20,1	99,6	59,5	88,8	23,0
2/6/2016	25,5	16,9	20,1	99,4	58,0	86,0	30,9
3/6/2016	21,6	17,0	19,0	99,1	79,9	94,2	22,5
4/6/2016	22,7	17,8	19,5	99,8	79,4	95,8	6,0
27/06/2016	24,9	8,0	16,2	99,3	38,6	73,1	0,0
28/06/2016	24,9	8,0	16,5	98,5	38,0	72,5	0,0
29/06/2016	27,1	8,6	18,0	98,7	39,8	71,6	0,0
30/06/2016	26,5	10,6	18,3	98,3	39,5	72,9	0,0
1/7/2016	27,4	12,5	19,6	96,9	38,5	70,8	0,0
2/7/2016	27,7	13,7	20,1	98,1	32,3	67,4	0,0
25/07/2016	28,9	12,6	20,4	93,4	32,0	64,2	0,0
26/07/2016	29,8	10,3	20,6	97,0	29,1	59,6	0,0
27/07/2016	29,8	12,6	21,0	89,9	32,1	60,4	0,0
28/07/2016	25,7	10,9	17,5	79,9	37,3	56,1	0,0
29/07/2016	25,9	11,7	17,6	92,9	43,2	72,6	0,0
30/07/2016	27,4	10,1	18,6	99,3	36,0	71,5	0,0
23/08/2016	25,5	6,9	15,8	98,9	35,0	70,7	0,0
24/08/2016	27,4	8,4	18,0	99,3	40,8	71,9	0,0
25/08/2016	30,3	9,6	18,0	99,3	28,1	69,6	0,0
26/08/2016	30,5	10,1	20,3	98,2	26,3	61,8	0,0
27/08/2016	30,8	10,9	21,0	96,2	20,3	54,3	0,0
28/08/2016	33,0	11,5	22,4	88,6	23,3	53,7	0,0
19/09/2016	32,0	16,0	22,4	98,1	36,8	71,7	0,0
20/09/2016	24,9	12,9	19,3	91,1	48,5	71,1	0,0
21/09/2016	24,7	9,7	17,1	91,6	36,8	63,1	0,0
22/09/2016	28,5	12,5	19,9	87,1	25,1	58,1	0,0
23/09/2016	31,9	11,6	21,5	98,3	34,9	66,4	0,0
24/09/2016	29,8	15,1	20,9	86,2	33,6	65,7	0,0

NOTA: Dados climáticos obtidos da estação automática do **posto metereológico** da ESALQ/USP.

A cana-de-açúcar concentra sacarose nos períodos mais frios. O período de estudo da qualidade compreendeu esses meses. O mês de agosto foi um mês com temperaturas mínimas muito baixas, chegando a 6,9 °C, preocupando o setor com a incidência de geadas. Esse fator acelerou as colheitas das variedades em regiões de baixada, onde a geada foi mais intensa,

como forma de minimizar a isoporização e perdas de sacarose. Essas temperaturas baixas, minimizaram a perda de água durante o tempo entre colheita e processamento dessas variedades e portanto a variação de Pol%cana, ARC e ATR foram menores.

Apesar da ausência de chuvas nos períodos de tempo entre colheita e processamento, nos meses de junho a setembro, observa-se uma umidade relativa bastante alta, pois houve precipitações nos dias que antecederam as colheitas, onde a sensação térmica foi de menor temperatura.

Mesmo com o solo úmido, a quantidade de dextrana no caldo foi baixa, essa baixa concentração está relacionada a resistência ao tombamento das variedades e portanto um menor contato do colmo com o solo. Essa vantagem em relação as variedades susceptíveis a tombamento diminui a entrada de impurezas minerais no processo e portanto menor concentração de dextrana no caldo.

4.3.4. Impacto no pagamento de cana-de-açúcar de matéria-prima ainda em maturação

A Tabela 14 apresenta valores de Pol%cana, ARC, ATR e preço da tonelada paga ao fornecedor, das variedades estudadas ao longo do período de maturação.

Tabela 14. Simulação do pagamento de cana-de-açúcar no momento da colheita.

Meses	CTC 11				IACSP955000			
	Pol%cana	ARC	ATR	Preço da tonelada (R\$)*	Pol%cana	ARC	ATR	Preço da tonelada (R\$)*
maio	6	1,14	69	39	8	0,91	89	51
junho	9	0,95	93	57	10	0,79	104	64
julho	10	0,86	98	62	13	0,57	133	83
agosto	11	0,77	114	74	15	0,54	145	94
setembro	13	0,64	130	90	14	0,56	136	93

Nota: *A precificação da cana-de-açúcar é formulada em relação a preço do ATR em $\text{R}\$. \text{ton}^{-1}$ disponibilizado mensalmente pelo CONSECANA, onde os valores foram: em maio R\$ 0,5749, junho R\$ 0,6154, julho R\$ 0,6269, agosto R\$ 0,6461 e setembro R\$0,6887.

Segundo os dados apresentados, o fornecedor recebe mais pela matéria-prima em ponto máximo de maturação. Considerando que, o período ideal de colheita das variedades estudadas são a partir da segunda quinzena de agosto, e que por algum acidente a cana-de-

açúcar precise ser colhida no mês de maio, o fornecedor receberá uma baixa remuneração em relação a qualidade que entrega, pois o ATR ainda está muito baixo para processamento.

4.4. Conclusão

O estudo permitiu acompanhar o período de maturação das variedades CTC11 e IACSP955000 podendo observar os valores e momentos máximos de concentração de sacarose e as consequências no pagamento pela qualidade empregada. Pode-se observar que a qualidade da cana-de-açúcar é bastante influenciada por fatores climáticos, características intrínsecas a variedade e tipo de colheita empregado, portanto, a máxima atenção deve ser ofertada a cultura objetivando altas produtividades.

4.5. Agradecimentos

À CAPES e ao CNPq pela concessão da bolsa. Aos companheiros de trabalho do Laboratório Hugot de Tecnologia em Sucroderivados. À usina da região de Piracicaba pela doação da matéria-prima.

Referências

- ALVES, F.V.; AGUIAR, C.L.; SARMENTO, S.B.S. The effects of starch and dextran on technological analyses of sugarcane juice. **Sugar Journal**, v. 76, p. 14–31, 2013.
- BASTOS, C.R.; POMMER, C.V.; CAMARGO, A.P.; BOVI, V.; CIONE, J.; RIBEIRO, R.F. Efeito da geada nas características tecnológicas de algumas variedades de cana-de-acucar. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 18, n. 6, p. 565–574, 1983.
- BASTOS, I.T.; BARBOSA, M.H.P.; CRUZ, C.D.; BURNQUIST, W.L.; BRESSIANI, J.A.; SILVA, F.D. Análise dialélica em clones de cana-de-açúcar. **Bragantia**, v. 62, n. 2, p. 199–206, 2003.
- BEZERRA, S.A.; CANTALICE, J.R.B. Erosão entre sulcos em diferentes condições de cobertura do solo, sob cultivo da cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciencia do Solo**, v. 30, n. 3, p. 565–573, 2006.
- CARLIN, S.D. **Impacto do tombamento na produtividade de diferentes variedades de cana-de-açúcar**. 2005. 86 p. Dissertação (Mestre em Tecnologia de Produção Agrícola), Instituto Agrônômico de Campinas, Campinas, 2005.
- CONAB - COMPANHIA NACIONAL DE ABASTECIMENTO. **Acompanhamento da safra brasileira de Cana-de- açúcar**. v. 3, n. 3, 78 p., 2016.
- CONSECANA - CONSELHO DOS PRODUTORES DE CANA-DE-AÇÚCAR, AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Manual de Instruções**. 5 ed. Piracicaba: CONSECANA, 2006. 112 p.
- COPERSUCAR - COOPERATIVA CENTRAL DOS PRODUTORES DE AÇÚCAR E ÁLCOOL DO ESTADO DE SÃO PAULO. Métodos analíticos. In: **COPERSUCAR. Manual de Controle Químico da Fabricação e Açúcar**. Piracicaba: Copersucar. 2001, p. 1-57.
- CTC. **Variedades CTC**. 2013.
- CUDDIHY, J.A.; PORRO, M.E.; RAUH, J.S. The presence of total polyssacharides in sugar production and methods for reducing their negative effects. **Journal American Society of Sugacane Technologists**, v. 21, p. 73–91, 2001.
- DALRI, A.B.; CRUZ, R.L.; GARCIA, C.J.B.; DUENHAS, L.H. Irrigação por gotejamento subsuperficial na produção e qualidade de cana-de-açúcar. **Irriga**, v. 13, n. 1, p. 1–11, 2008.
- DIAS, F.L.F. **Relação entre a produtividade, clima, solos e variedades de cana-de-açúcar, na Região Noroeste do Estado de São Paulo**. 1997. 61 p. Dissertação (Mestre em

- Agronomia), Universidade de São Paulo, Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", Piracicaba, 1997.
- DIAS, F.L.F.; MAZZA, J.A.; MATSUOKA, S.; PERECIN, D.; MAULE, R.F. Produtividade da cana-de-açúcar em relação a clima e solos da região noroeste do estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 23, n. 3, p. 627–634, 1999.
- DINARDO-MIRANDA, L.L.; GARCIA, V.; PARAZZI, V.J. Efeito de inseticidas no controle de *Mahanarva fimbriolata* (Stål) (Hemiptera: Cercopidae) e de nematóides fitoparasitos na qualidade tecnológica e na produtividade da cana-de-açúcar. **Neotropical entomology**, v. 31, n. 4, p. 609–614, 2002.
- GIMENEZ, A.Z.; FRANZÉ, R.V.; MADALENO, L.L. Teores de impurezas vegetais e a concentração do amido no caldo de cana. **Ciência & Tecnologia**, v. 8, n. 1, p. 42–54, 2016.
- GONÇALVES, M.C.; FRANZÉ, R.V.; FERRI, E.H.; CARVALHO, M.R.; ANDRIOLI, B.T.; MADALENO, L.L. Qualidade da cana picada e do caldo em função do armazenamento no início da safra. In: **III Simpósio de Tecnologia Sucroenergética e de Biocombustíveis**. Jaboticabal. **Anais...**2015.
- IAC. **Variedades IAC**. 2012.
- IANNONI, A.P.; MORABITO, R. Análise do sistema logístico de recepção de cana de açúcar: um estudo de caso utilizando simulação discreta. **Gestão & Produção**, v. 9, n. 2, p. 107–128, 2002.
- LAVANHOLI, M.G.D.P. Qualidade da cana-de-açúcar como matéria prima para produção de açúcar e álcool. In: DINARDO-MIRANDA, L.L.D.; VASCONCELOS, A.C.M.; LANDELL, M.G.A. (Ed.). **Cana-de-açúcar**. Campinas: Instituto Agrônomo, p. 697–722, 2010.
- MARQUES, T.A.; SILVA, W.H. Crescimento vegetativo e maturação em três cultivares de cana-de-açúcar. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 8, n. 1, p. 54–60, 2008.
- MAULE, R.F.; MAZZA, J.A.; MARTHA JR., G.B. Produtividade agrícola de cultivares de cana-de-açúcar em diferentes solos e épocas de colheita. **Scientia Agricola**, v. 58, n. 2, p. 295–301, 2001.
- NETO, J.D.; FIGUEREDO, J.L.D.C.; FARIAS, C.D.; AZEVEDO, H.D.; AZEVEDO, C.D. Resposta da cana-de-açúcar, primeira soca, a níveis de irrigação e adubação de cobertura. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 10, n. 2, p. 283–288, 2006.
- PANNUTI, L.E.R.; BALDIN, E.L.L.; GAVA, G.J.C.; KOLLN, O.T.; CRUZ, J.C.S. Danos do complexo broca-podridão à produtividade e à qualidade da cana-de-açúcar fertirrigada

- com doses de nitrogênio. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 48, n. 4, p. 381–387, 2013.
- PARANHOS, S.B. Zoneamento agroclimático para o Brasil. In: **Cana-de-açúcar. Cultivo e utilização**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. p. 51–55.
- PRADO, H.; VAN LIER, Q.J.; LANDELL, M.G.A.; VASCONCELOS, A.C.M. **Classes de disponibilidade de água para a cana-de-açúcar nos principais solos da região Centro-Sul do Brasil**. Congresso Nacional de Irrigação e Drenagem. Juazeiro. **Anais...**2003.
- PÚGLIA, A.L. **Desempenho de leveduras selvagens com potencial de produção de enzimas aminolíticas em processo fermentativo**. 2006. 42 p. Dissertação (Mestrado em Microbiologia) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal, 2006.
- RIPOLI, T.C.C; RIPOLI, M.L.C. **Biomassa de cana-de-açúcar: colheita, energia e ambiente**. Piracicaba: Barros & Marques Ed. Eletrônica, 2004. 302 p.
- ROBERTS, E.J. A quantitative method for dextran analysis. **International Sugar Journal**, v. 85, n. 1009, p. 10–13, 1983.
- ROSSETTO, R. Maturação. **Embrapa**, p. 1, 2006.
- SACHS, R.C. Remuneração da tonelada de cana-de-açúcar no estado de São Paulo. **Informações Econômicas**, v. 37, n. 2, p. 55–66, 2007.
- SOUZA, Z.M.; PRADO, R.M.; PAIXÃO, A.C.S.; CESARIN, L.G. Sistemas de colheita e manejo da palhada de cana-de-açúcar. n. 1, p. 271–278, 2005.
- TASSO-JÚNIOR, L.C.; MARQUES, M.O.; FRANCO, A.; NOGUEIRA, G.A.; NOBILE, F.O.; CAMILOTTI, F.; SILVA, A.R. Produtividade e qualidade de cana-de-açúcar cultivada em solo tratado com lodo de esgoto, vinhaça e adubos minerais. **Engenharia Agrícola**, v. 27, n. 1, p. 276–283, 2007.
- VIANA, R.S.; SILVA, P.H.; MUTTON, M.A.; MUTTON, M.J.R.; GUIMARÃES, E.R.; BENTO, M. Efeito da aplicação de maturadores químicos na cultura da cana de açúcar (*Saccharum* spp.) variedade SP81-3250. **Acta Scientiarum - Agronomy**, v. 30, n. 1, p. 65–71, 2008.
- VITTI, A.C.; TRIVELIN, P.C.O.; GAVA, G.J.C.; PENATTI, C.P.; BOLOGNA, I.R.; FARONI, C.E.; FRANCO, H.C.J. Produtividade da cana-de-açúcar relacionada ao nitrogênio residual da adubação e do sistema radicular. **Pesquisa Agropecuaria Brasileira**, v. 42, n. 2, p. 249–256, 2007.

WIEDENFELD, R.P. Water stress during different sugarcane growth periods on yield and response to N fertilization. **Agricultural Water Management**, v. 43, n. 2, p. 173–182, 2000.